

(57)要約

本発明は、G蛋白質共役型レセプター蛋白質がリガンドとして認識するポリペプチドの用途に関し、本発明におけるリガンドポリペプチドは、オキシトシン分泌の促進作用を有するため、微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出前後、子宮復古不全などのオキシトシン分泌に係る各種疾患の改善、予防および治療薬として有用である。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MA	モロッコ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	GW	ギニア・ビサウ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TZ	タンザニア
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	US	米国
CI	コートジボアール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IN	インド	MZ	モザンビーク	VN	ヴェトナム
CN	中国	IS	アイスランド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CU	キューバ	JP	日本	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CY	キプロス	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド		
CZ	チェッコ						



(51) 国際特許分類7 A61K 38/17	A1	(11) 国際公開番号 WO00/38704  (43) 国際公開日 2000年7月6日(06.07.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/07199  (22) 国際出願日 1999年12月22日(22.12.99)  (30) 優先権データ 特願平10/369585 1998年12月25日(25.12.98) JP  (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.)(JP/JP) 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka, (JP)  (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 松本寛和(MATSUMOTO, Hirokazu)(JP/JP) 〒305-0821 茨城県つくば市春日1丁目7番地9 武田春日ハイツ1204号 Ibaraki, (JP) 北田千恵子(KITADA, Chieko)(JP/JP) 〒590-0073 大阪府堺市南向陽町1丁目2番8号 Osaka, (JP) 日沼州司(HINUMA, Shuji)(JP/JP) 〒305-0821 茨城県つくば市春日1丁目7番地9 武田春日ハイツ1402号 Ibaraki, (JP)		(74) 代理人 弁理士 高橋秀一, 外(TAKAHASHI, Shuichi et al.) 〒532-0024 大阪府大阪市淀川区十三本町 2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka, (JP)  (81) 指定国 AE, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, US, UZ, VN, YU, ZA, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)  添付公開書類 国際調査報告書
(54)Title: USE OF PEPTIDE  (54)発明の名称 ペプチドの用途  (57) Abstract Use of a polypeptide recognized as a ligand by a G protein-coupled receptor protein. Because of having an effect of promoting the secretion of oxytocin, this ligand polypeptide is useful as drugs for ameliorating, preventing and treating various diseases relating to the oxytocin secretion such as week pains, atonic bleeding, before or after expulsion of placenta, uterine recovery failure, etc.		

## 明 細 書

## ペプチドの用途

## 5 技術分野

本発明は、生理活性ペプチドの用途に関する。さらに詳しくは、本発明は、G蛋白質共役型レセプター（受容体と呼ぶこともある）蛋白質に対するリガンド・ポリペプチドを含有するオキシトシン分泌調節剤などに関する。

## 10 背景技術

多くのホルモンや神経伝達物質は細胞膜に存在する特異的なレセプターを通じて生体の機能を調節している。これらのレセプターの多くは共役しているグアニンヌクレオチド結合性蛋白質（guanine nucleotide-binding protein、以下、G蛋白質と略称する場合がある）の活性化を通じて細胞内のシグナル伝達を行う。

15 また、これらのレセプターは、7個の細胞膜貫通領域を有する共通した構造をもっていることから、G蛋白質共役型レセプターあるいは7回膜貫通型レセプター（7TMR）と総称される。

このようなG蛋白質共役型レセプター蛋白質の一つとして、phGR3（またはGPR10と呼ばれることもある）遺伝子によってコードされるヒト型レセプター蛋白質〔ゲノミックス（Genomics）、第29巻、第335頁（1995年）〕、

20 およびそれに対応するラット型レセプター蛋白質UHR-1〔バイオケミカル・アンド・バイオフィジカル・リサーチ・コミュニケーション（Biochem. Biophys. Res. Commun.）、第209巻、第606頁（1995年）〕が知られている。

また、上記のphGR3およびUHR-1に対するリガンドとして機能する生理活性ペプチドとして、PrRP〔ネイチャー（Nature）、第393巻、272

25 -276頁（1998）〕が知られている。

PrRPは、*in vitro*の下垂体細胞培養系において下垂体前葉ホルモンに対しては、特異的にプロラクチン放出作用が認められている〔ネイチャー（Nature）、第393巻、272-276頁（1998）〕が、他の生理作用、特に下垂体後

葉ホルモンに対する影響は明らかではない。また、下垂体後葉ホルモンであるオキシトシンを調節する内因性の調節ホルモンは現在のところ不明である。

#### 発明の開示

5      本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、まず、認識部位の異なるPrRPに対する特異的なモノクローナル抗体を2種類作製し、PrRPの高感度測定系（Sandwich-EIA系）を作製した（特願平10-140293号，WO 99/60112号）。この測定系を用いてラットでのPrRPの組織分布を調べた結果、既報〔ネイチャー（Nature），第393巻，  
10      272頁（1998）〕通り視床下部などに高濃度に分布したほか、下垂体後葉においても高濃度のPrRPの存在を確認した。このことは、PrRPが下垂体後葉ホルモンの分泌になんらかの影響を与えるものと考えられた。さらに、PrRPをラットに脳室内投与したところ血中のオキシトシン濃度が上昇し、PrRPがオキシトシンの放出を調節する作用を有することを見いだした。

15      すなわち、本発明は、

（1）G蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩を含有するオキシトシン分泌調節剤；

20      （2）G蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩が、配列番号：44で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはそのアミド、エステルもしくはその塩である前記（1）記載のオキシトシン分泌調節剤；

（3）配列番号：44で表されるアミノ酸配列が、配列番号：3、18または32である前記（2）記載のオキシトシン分泌調節剤；

25      （4）G蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩が、配列番号：45で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはそのアミド、エステルもしくはその塩である前記（1）記載のオキシトシン分泌調節剤；

（5）配列番号：45で表されるアミノ酸配列が、配列番号：6、21または35である前記（4）記載のオキシトシン分泌調節剤；

- (6) オキシトシン分泌促進剤である前記(1)記載のオキシトシン分泌調節剤；
- (7) 微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出前後、子宮復古不全、帝王切開術、人工妊娠中絶または乳汁うっ滞の改善、予防または治療薬である前記(6)記載のオキシトシン分泌促進剤；
- 5 (8) オキシトシン分泌を調節するためのG蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩の使用；
- (9) オキシトシン分泌調節剤を製造するためのG蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩の使用；
- (10) G蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩を、オキシトシン分泌不全に係する疾患を有する哺乳動物に投与することを特徴とするオキシトシン分泌を調節する方法などに関する。
- 10

#### 図面の簡単な説明

- 図1は、PrRP(19P2-L31)のラット組織含量を示す。
- 15 図2は、PrRP(19P2-L31)を10nmolラットの脳室内に投与した時の血中オキシトシン濃度の変動を示す。

#### 発明を実施するための最良の形態

- 本明細書および図面において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclatureによる略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体が存在する場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。
- 20

- |         |               |
|---------|---------------|
| DNA     | : デオキシリボ核酸    |
| 25 cDNA | : 相補的デオキシリボ核酸 |
| A       | : アデニン        |
| T       | : チミン         |
| G       | : グアニン        |
| C       | : シトシン        |

	RNA	: リボ核酸
	mRNA	: メッセンジャーリボ核酸
	ATP	: アデノシン三リン酸
	EDTA	: エチレンジアミン四酢酸
5	SDS	: ドデシル硫酸ナトリウム
	E I A	: エンザイムイムノアッセイ
	G l y または G	: グリシン
	A l a または A	: アラニン
	V a l または V	: バリン
10	L e u または L	: ロイシン
	I l e または I	: イソロイシン
	S e r または S	: セリン
	T h r または T	: スレオニン
	C y s または C	: システイン
15	M e t または M	: メチオニン
	G l u または E	: グルタミン酸
	A s p または D	: アスパラギン酸
	L y s または K	: リジン
	A r g または R	: アルギニン
20	H i s または H	: ヒスチジン
	P h e または F	: フェニルアラニン
	T y r または Y	: チロシン
	T r p または W	: トリプトファン
	P r o または P	: プロリン
25	A s n または N	: アスパラギン
	G l n または Q	: グルタミン
	p G l u	: ピログルタミン酸
	M e	: メチル
	E t	: エチル

Bu : ブチル

Ph : フェニル

また、本明細書中で繁用される置換基、保護基および試薬を下記の記号で表記する。

- |    |                      |                                 |
|----|----------------------|---------------------------------|
| 5  | BHA                  | : ベンズヒドリルアミン                    |
|    | pMBHA                | : p-メチルベンズヒドリルアミン               |
|    | Tos                  | : p-トルエンスルフォニル                  |
|    | CHO                  | : ホルミル                          |
|    | HONB                 | : N-ヒドロキシー-5-ノルボルネン-2, 3-ジカルボキシ |
| 10 |                      | イミド                             |
|    | OctHex               | : シクロヘキシルエステル                   |
|    | Bzl                  | : ベンジル                          |
|    | Cl <sub>2</sub> -Bzl | : ジクロロベンジル                      |
|    | Bom                  | : ベンジルオキシメチル                    |
| 15 | Z                    | : ベンジルオキシカルボニル                  |
|    | Br-Z                 | : 2-ブロモベンジルオキシカルボニル             |
|    | Boc                  | : t-ブチルオキシカルボニル                 |
|    | DCM                  | : ジクロロメタン                       |
|    | HOBT                 | : 1-ヒドロキシベンズトリアゾール              |
| 20 | DCC                  | : N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド         |
|    | TFA                  | : トリフルオロ酢酸                      |
|    | DEA                  | : ジイソプロピルエチルアミン                 |
|    | Fmoc                 | : N-9-フルオレニルメトキシカルボニル           |
|    | DNP                  | : ジニトロフェニル                      |
| 25 | Bum                  | : ターシャリープトキシメチル                 |
|    | Trt                  | : トリチル                          |

本明細書において、「実質的に同一」とは、ポリペプチドの活性（例えば、リガンドと受容体の結合活性など）またはポリペプチドのオキシトシン分泌調節作

用（例えば、オキシトシン分泌促進作用、オキシトシン分泌阻害作用など）などが、実質的に同じであることを意味する。従って、「実質的に同一」のアミノ酸配列とは、ポリペプチドの活性、例えば、リガンドと受容体の結合活性（例えば、リガンドと受容体との結合活性など）やポリペプチドのオキシトシン分泌調節作用（例えば、オキシトシン分泌促進作用、オキシトシン分泌阻害作用など）などが、実質的に同じである（著しい変化を生じていない）状態が保たれる限りの変異を有していてもよいアミノ酸配列を意味する。

一般に、ポリペプチド配列中におけるアミノ酸の置換、欠失または挿入（付加）などの変異は、そのポリペプチドの生理的な特性や化学的な特性に大きな（著しい）変化をもたらさないことがしばしばあることは、よく知られた事実である。該置換の例としては、あるアミノ酸が性質（特性）の似ている他のアミノ酸で置換されたものが挙げられ、一般的には、特性の類似性が強いアミノ酸相互間で置換が行われる場合ほど、その置換が置換前の元のポリペプチドにおよぼす特性の変化は小さいと考えられている。

アミノ酸は、その特性の類似性を一つの基準にして例えば次のようなクラスに分類される。（i）非極性（疎水性）アミノ酸としては、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニンなどが挙げられる。（ii）極性（中性）アミノ酸としてはグリシン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、グルタミンなどが挙げられる。（iii）陽電荷をもつ（塩基性）アミノ酸としてはアルギニン、リジン、ヒスチジンなどが挙げられる。（iv）負電荷をもつ（酸性）アミノ酸としては、アスパラギン酸、グルタミン酸などが挙げられる。

本明細書中で対象とするアミノ酸配列中のアミノ酸の「実質的に同一」な置換物としては、例えばそのアミノ酸が属するクラスのうち特性の似ている他のアミノ酸類から選ばれることが多い。

本発明においては、元の（無変異の）ポリペプチドの生理的な特性や化学的な特性に重大な（著しい）変化をもたらさないような置換、欠失または挿入等のアミノ酸配列における変異の結果得られるポリペプチド（変異型ポリペプチド）は、そのような変異を有していない元の（無変異の）ポリペプチドと実質的に同一で



あると見なされ、またその変異型ポリペプチドのアミノ酸配列は、元の（無変異の）ポリペプチドのアミノ酸配列と実質的に同一であると見なされる。

なお、本発明におけるポリペプチド中の構成アミノ酸は、D体またはL体のいずれであってもよいが、特にことわらない限り通常はL体が好ましい。

- 5      本発明におけるポリペプチドは、G蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガ  
ンドペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、即ちG蛋  
白質共役型レセプター蛋白質に結合することができるリガンドポリペプチドもし  
くはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩であり、具体的には例えば、  
配列番号：44または配列番号：45で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実  
10      質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはそのアミドもしくはそ  
のエステルまたはその塩（以下、単にリガンドポリペプチドまたはポリペプチド  
と略称する場合がある）が挙げられる。

- 15      ここで、G蛋白質共役型レセプター蛋白質とは、7個の細胞膜貫通領域を有す  
る共通した構造をもっているレセプター蛋白質で、その多くは共役しているグア  
ニンヌクレオチド結合性蛋白質（guanine nucleotide-binding protein）の活性  
化を通じて細胞内のシグナル伝達を行うものである。

配列番号：44で表される該アミノ酸配列として好ましくは、配列番号：3、  
18または32で表されるアミノ酸配列が挙げられ、とりわけ、配列番号：32  
で表されるアミノ酸配列で表されるアミノ酸配列が挙げられる。

- 20      配列番号：45で表される該アミノ酸配列として好ましくは、配列番号：6、  
21または35で表されるアミノ酸配列が挙げられ、とりわけ、配列番号：35  
で表されるアミノ酸配列で表されるアミノ酸配列が挙げられる。

- 25      本発明における該ポリペプチドとしては、ヒトや温血動物（例えば、モルモッ  
ト、ラット、マウス、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど）のあらゆる組織（例えば、  
下垂体、脾臓、脳、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髓、副腎、皮膚、  
筋肉、肺、消化管、血管、心臓など）または細胞などに由来するポリペプチドで  
あって、具体的には例えば、配列番号：44または配列番号：45で表わされる  
アミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列、好ましくは、配列番  
号：3、18もしくは32または配列番号：6、21または35で表されるアミ

ノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するものであればよい。

例えば、本発明における該リガンドポリペプチドとしては、配列番号：44または配列番号：45で表わされるアミノ酸配列、好ましくは、配列番号：3、18もしくは32または配列番号：6、21もしくは35で表されるアミノ酸配列を含有するポリペプチドなどの他に、配列番号：44または配列番号：45で表わされるアミノ酸配列、好ましくは、配列番号：3、18もしくは32または配列番号：6、21もしくは35で表されるアミノ酸配列と約50～99.9%（好ましくは70～99.9%、より好ましくは80～99.9%、さらに好ましくは90～99.9%）の相同性を有するアミノ酸配列を含有し、配列番号：44または配列番号：45で表わされるアミノ酸配列、好ましくは、配列番号：3、18もしくは32または配列番号：6、21もしくは35で表されるアミノ酸配列を含有するポリペプチドと実質的に同質の活性を有するポリペプチドなどが挙げられる。該活性としては、例えばレセプター結合活性、シグナル伝達活性など、該リガンドポリペプチドが有する活性が挙げられる。活性が「実質的に同質」とは、該レセプター結合活性などの特性が同質であることを示す。従って、該レセプター結合活性には著しくない程度の強弱が認められてもよく、また、該リガンドポリペプチドの分子量における相違は問題ではない。ヒトや温血動物の同じ属由来の実質的に同一のペプチドが、由来する種の違い（例えば、人種間の違い等）によりそのペプチドの本質的でないアミノ酸配列上の差異が認められることがあるが、本発明における該ポリペプチドとしては、本質的でないアミノ酸配列上の差異によるこれらのペプチドも包含する。

本発明のリガンドポリペプチドその製造法および用途を以下にさらに詳細に説明する。

本発明のリガンドポリペプチドとして、具体的には例えば、配列番号：44または配列番号：45で表わされるアミノ酸配列を含有するラット、ウシ、ヒトまたはマウス由来のポリペプチドなどが挙げられる。（なお、配列番号：44において第3番目のXaaはThrもしくはAla、第5番目のXaaはArgもし

くはGln、第10番目のXaaはIleもしくはThr、第21番目のXaaはThrもしくはAla、第22番目のXaaはGlyもしくはSerを示し、配列番号：45において 第10番目のXaaはThrもしくはAla、第11番目のXaaはGlyもしくはSerを示す。)

5       また、本発明の該リガンドポリペプチドには、

(i) 配列番号：44で表わされるアミノ酸配列中の1個以上15個以下、好ましくは1個以上10個以下、より好ましくは1個以上5個以下のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、

10       (ii) 配列番号：44で表わされるアミノ酸配列中の1個以上23個以下、好ましくは1個以上16個以下、より好ましくは1個以上11個以下のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、

(iii) 配列番号：44で表わされるアミノ酸配列に1個以上15個以下、好ましくは1個以上10個以下、より好ましくは1個以上5個以下のアミノ酸が付加した(挿入された)アミノ酸配列、さらには、

15       (iv) 上記(i)、(ii)または(iii)のポリペプチド中の構成アミノ酸(特にその側鎖)に修飾を有するアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩も含まれる。

さらに、本発明のリガンドポリペプチドには、

20       (v) 配列番号：45で表わされるアミノ酸配列中の1個以上10個以下、好ましくは1個以上5個以下のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、

(vi) 配列番号：45で表わされるアミノ酸配列中の1個以上10個以下、好ましくは1個以上5個以下のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、

(vii) 配列番号：45で表わされるアミノ酸配列に1個以上10個以下、好ましくは1個以上5個以下のアミノ酸が付加した(挿入された)アミノ酸配列、さら

25       には、

(viii) 上記(v)、(vi)または(vii)のポリペプチド中の構成アミノ酸(特にその側鎖)に修飾を有するアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩も含まれる。

本発明の該リガンドポリペプチドは、そのアミノ酸配列中に上記(i)ないし

(viii) の置換、欠失、付加、修飾などを意図的または偶発的に施すことにより、熱やプロテアーゼに対する安定型リガンドポリペプチドや、該リガンドポリペプチドの有する生理活性が高まった高活性型リガンドポリペプチドに変異（変換）させることが可能である。本発明における該リガンドポリペプチドまたはそのアミド、エステルもしくはその塩は、これら変異型リガンドポリペプチドも包含する。

本明細書において、ペプチドの表記は、その慣例に従い、左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）として記載する。

本発明のポリペプチド中の構成アミノ酸における修飾の例としては、例えば、GlnのN端側が生体内で切断され、該Glnがピログルタミン酸化したものなどが挙げられる。

本発明におけるポリペプチド、例えば配列番号：44または配列番号45で表されるポリペプチドは、C末端アミノ酸残基の $\alpha$ -カルボキシル基が、通常はカルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）またはカルボキシレート（ $-\text{COO}^-$ ）であるが、C末端アミノ酸残基の該カルボキシル基がアミド（ $-\text{CONH}_2$ ）またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）であってもよい。 $-\text{COOR}$ で表される該エステルのRとしては、例えばメチル、エチル、 $n$ -プロピル、イソプロピルもしくは $n$ -ブチルなどの $\text{C}_{1-6}$ アルキル基、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの $\text{C}_{3-8}$ シクロアルキル基、フェニル、 $\alpha$ -ナフチルなどの $\text{C}_{6-12}$ アリール基、ベンジル、フェネチルなどのフェニル $\text{C}_{1-2}$ アルキル基、ベンズヒドリルなどのジフェニル- $\text{C}_{1-2}$ アルキル、もしくは $\alpha$ -ナフチルメチルなどの $\alpha$ -ナフチル- $\text{C}_{1-2}$ アルキルなどの $\text{C}_{7-14}$ アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが挙げられる。

また、本発明におけるポリペプチド、例えば配列番号：44または配列番号45で表されるポリペプチドが、C末端以外にカルボキシル基またはカルボキシレートを有している場合、それらの基がアミド化またはエステル化されているポリペプチドも本発明のポリペプチドに含まれる。この場合のエステルとしては、例えば前述のC末端アミノ酸残基のエステルなどと同様である。

本発明のリガンドポリペプチドとしては特にC末端アミノ酸残基のカルボキシ

ル基がアミドであるペプチドが好ましい。なかでも、配列番号：3、6、18、21、32または35で表されるアミノ酸配列を有するポリペプチドのC末端アミノ酸残基のカルボキシル基がアミドであるポリペプチドが好ましい。

本発明のポリペプチドの塩としては、生理学的に許容される塩基（例えばアルカリ金属など）または酸（有機酸、無機酸）との塩が用いられるが、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては例えば無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸など）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、シュウ酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸など）との塩などが用いられる。

本発明のリガンドポリペプチドは、(i) ヒトまたは温血動物の組織または細胞からポリペプチドを精製する方法によって製造することができ、また、(ii) 公知のポリペプチド合成法に準じて製造することもできる。さらにまた、(iii) 該ポリペプチドをコードするDNAを含有する形質転換体を培養する方法（後述）によって製造することもできる。

(i) 該リガンドポリペプチドを、ヒトまたは温血動物の組織または細胞から製造する場合、ヒトまたは温血動物の組織または細胞をホモジナイズした後、酸などで抽出を行い、該抽出液を逆相クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィーなどのクロマトグラフィーを組み合わせることにより精製単離することができる。

(ii) 該リガンドポリペプチドは、自体公知のポリペプチドの合成法に従って製造することもできる。ペプチドの合成法としては、例えば固相合成法、液相合成法のいずれによってもよい。即ち、リガンドポリペプチドを構成し得る部分ペプチドもしくはアミノ酸と残余部分とを縮合させ、生成物が保護基を有する場合は保護基を脱離することにより目的のペプチドを製造することができる。この場合の公知の縮合方法や保護基の脱離方法としては例えば、以下の①～⑤に記載された方法が挙げられる。

① M. Bodanszky および M. A. Ondetti : ペプチド シンセシス (Peptide Synthesis), Interscience Publishers, New York (1966年)

② Schroeder および Luecke : ザ ペプチド (The Peptide), Academic Press, New York (1965年)

③ 泉屋信夫他 : ペプチド合成の基礎と実験, 丸善(株) (1975年)

④ 矢島治明 および 榊原俊平 : 生化学実験講座 1, タンパク質の化学IV, 205, (1977年)

⑤ 矢島治明監修, 続医薬品の開発 第14巻 ペプチド合成 広川書店

上記 (ii) の該リガンドポリペプチドの合成法として具合的には、例えば次の方法などが挙げられる。

該リガンドポリペプチドのアミド体を合成するには、アミド形成に適したペプチド合成用樹脂を用いるとよい。そのような樹脂としては例えば、クロロメチル樹脂、ヒドロキシメチル樹脂、ベンズヒドリルアミン樹脂、アミノメチル樹脂、4-ベンジルオキシベンジルアルコール樹脂、4-メチルベンズヒドリルアミン樹脂、PAM樹脂、4-ヒドロキシメチルメチルフェニルアセトアミドメチル樹脂、ポリアクリルアミド樹脂、4-(2', 4'-ジメトキシフェニル-ヒドロキシメチル) フェノキシ樹脂、4-(2', 4'-ジメトキシフェニル-Fmocアミノエチル) フェノキシ樹脂などが挙げられる。このような樹脂を用い、 $\alpha$ -アミノ基と側鎖官能基を公知の適当な保護基で保護したアミノ酸を、自体公知の各種縮合方法に従い、目的とするペプチドの配列通りに該樹脂上で縮合させる。反応の最後に樹脂からペプチドを切り出すとともに各種保護基を除去し、目的のポリペプチドを取得することができる。前述の保護されたアミノ酸を縮合させるには、ペプチド合成に使用できる各種活性化試薬を用いることができるが、特に、カルボジイミド類がよい。カルボジイミド類としてはDCC、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロリル)カルボジイミドなどが挙げられる。

これらによる活性化には、ラセミ化抑制添加剤 (例えば、HOBt) とともに保護されたアミノ酸を直接樹脂に添加するかまたは、対称酸無水物またはHOBtエステルあるいはHOObtエステルとしてあらかじめ保護されたアミノ酸の活性化を行ったのちに樹脂に添加することができる。保護されたアミノ酸の活性化や樹脂との縮合に用いられる溶媒としては、ペプチド縮合反応に使用可能な公

知の溶媒から適宜選択すればよい。該溶媒としては、例えばN，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドンなどの酸アミド類、塩化メチレン、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、トリフルオロエタノールなどのアルコール類、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド類、  
5 ピリジンなどの三級アミン類、ジオキサン、テトラヒドロフランなどのエーテル類、アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル類、酢酸メチル、酢酸エチルなどのエステル類あるいはこれらの適宜の混合物などが挙げられる。該縮合反応における反応温度は、公知のペプチド結合形成反応に使用可能な温度範囲から適宜選択すればよく、通常約-20℃～50℃の範囲が挙げられる。該活性化されたアミノ酸誘導体は、通常1.5～4倍過剰で用いられる。縮合反応の達成度  
10 は公知のニンヒドリン反応を用いて確認することができ、その結果、縮合が不十分な場合には保護基の脱離を行うことなく縮合反応を繰り返すことにより十分な縮合を行うことができる。反応を繰り返しても十分な縮合が得られないときには、無水酢酸またはアセチルイミダゾールを用いて未反応アミノ酸をアセチル化し、  
15 後の反応に影響をおよぼさないようにすることもできる。

該ペプチド合成の際の原料となるアミノ酸のアミノ基の保護基としては、例えば、Z、Boc、tert-アミルオキシカルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、Cl-Z、Br-Z、アダマンチルオキシカルボニル、トリフルオロアセチル、フタリル、ホルミル、2-ニ  
20 トロフェニルスルフェニル、ジフェニルホスフィノチオイル、Fmocなどが挙げられる。カルボキシ基の保護基としては、例えば前述のC<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>3-8</sub>シクロアルキル基、C<sub>7-14</sub>アラルキル基、2-アダマンチル、4-ニトロベンジル、4-メトキシベンジル、4-クロロベンジル、フェナシル基およびベンジルオキシカルボニルヒドラジド、tert-ブトキシカルボニルヒドラジド、  
25 トリチルヒドラジドなどが挙げられる。

セリンおよびスレオニンの水酸基は、例えばエステル化またはエーテル化によって保護することができる。このエステル化に適する基としては例えばアセチル基などの低級(C<sub>1-6</sub>)アルカノイル基、ベンゾイル基などのアロイル基、ベン  
ジルオキシカルボニル基、エトキシカルボニル基などの炭酸から誘導される基な

どが挙げられる。また、エーテル化に適する基としては、例えばベンジル基、テトラヒドロピラニル基、tert-ブチル基などである。

チロシンのフェノール性水酸基の保護基としては、例えばBzl、Cl<sub>2</sub>-Bzl、2-ニトロベンジル、Br-Z、tert-ブチルなどが挙げられる。

- 5 ヒスチジンのイミダゾールの保護基としては、Tos、4-メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルホニル、DNP、ベンジルオキシメチル、Bum、Boc、Trt、Fmocなどが挙げられる。

- 本発明におけるリガンドポリペプチドとしては、例えば、上記した配列番号：44または配列番号：45で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
- 10 アミノ酸配列を含有するポリペプチドと同様のオキシトシン分泌調節作用を有している限り、そのアミノ酸配列に変異を有するどのようなペプチドであってもよい。このようなペプチドとしては例えば、配列番号：44で表されるアミノ酸配列を有するペプチドから1ないし20個以下のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を有するペプチドを挙げることができる。具体的には例えば、(a) 配列番号：
- 15 44で表されるアミノ酸配列の第2番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(b) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第3番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(c) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第4番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(d) 配列番号：
- 20 44で表されるアミノ酸配列の第5番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(e) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第6番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(f) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第7番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(g) 配列番号：
- 25 44で表されるアミノ酸配列の第8番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(h) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第9番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(i) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第10番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(j) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第11番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(k) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第12番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(l) 配列番号：



44で表されるアミノ酸配列の第13番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(m) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第14番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(n) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第15番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(o) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第16番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(p) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第17番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(q) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第18番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(r) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第19番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(s) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第20番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(t) 配列番号：44で表されるアミノ酸配列の第21番目から第31番目のアミノ酸配列を有するペプチドなどが好ましい。

配列番号：44で表されるアミノ酸配列としてより好ましい、配列番号：3、18または32についても、配列番号：44で表されるアミノ酸配列について例示したものと同様である。

また、配列番号：45で表されるアミノ酸配列を有するペプチドから1個以上10個以下のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列を有するペプチドを挙げることができる。具体的には、例えば、(a) 配列番号：45で表されるアミノ酸配列の第2番目から第20番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(b) 配列番号：45で表されるアミノ酸配列の第3番目から第20番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(c) 配列番号：45で表されるアミノ酸配列の第4番目から第20番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(d) 配列番号：45で表されるアミノ酸配列の第5番目から第20番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(e) 配列番号：45で表されるアミノ酸配列の第6番目から第20番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(f) 配列番号：45で表されるアミノ酸配列の第7番目から第20番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(g) 配列番号：45で表されるアミノ酸配列の第8番目から第20番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(h) 配列番号：45で表されるアミノ酸配列の第9番目から第20番目のアミノ酸配

列を有するペプチド、(i) 配列番号：45で表されるアミノ酸配列の第10番目から第20番目のアミノ酸配列を有するペプチド、(j) 配列番号：45で表されるアミノ酸配列の第11番目から第20番目のアミノ酸配列を有するペプチドなどが好ましい。

- 5 配列番号：45で表されるアミノ酸配列としてより好ましい、配列番号：6、21または35についても、配列番号：45で表されるアミノ酸配列について例示したようにそのアミノ酸配列に変異を有していてもよい。

本発明におけるリガンドポリペプチドは、さらに、他の蛋白質（例、機能または性質がよく知られている公知の蛋白質）との融合蛋白質であってもよい。

10

本発明におけるリガンドポリペプチドをコードするDNAとしては、本発明における配列番号：44または配列番号：45で表されるアミノ酸配列と同一または実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、組織・細胞由来のcDNA、組織・細胞由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに使用するベクターはバクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、組織・細胞よりRNA画分を調製したものを用いて直接RT-PCR (reverse transcription PCR) 法によって増幅することもできる。

15

- 20 より具体的には、配列番号：1または配列番号：15のアミノ酸配列を含有するラット全脳あるいはウシ視床下部由来のポリペプチドをコードするDNAとしては、配列番号：2で表わされる塩基配列を有するDNAなどが用いられる。

- ここで、配列番号：2において第129番目のRはGまたはAを、第179番目および240番目のYはCまたはTを示す。第179番目のYがCのとき、配列番号：1で表されるアミノ酸配列をコードし、第179番目のYがTのとき、  
25 配列番号：15で表されるアミノ酸配列をコードする。

また、配列番号：3、4、5、6、7または8で表されるアミノ酸配列を含有するウシ由来ポリペプチドをコードするDNAとしては、配列番号：9、10、11、12、13または14で表わされる塩基配列を有するDNAなどが用いら

れる。

ここで、配列番号：9、10、11の第63番目のRおよび配列番号：12、13、14の第29番目のRはGあるいはAを示す。

また、配列番号：8、18、19、20、21、22または23で表されるラット由来ポリペプチドをコードするDNAとしては、配列番号：17、24、25、26、17、28または29で表される塩基配列を有するDNAなどが用いられる。

さらに、配列番号：30、32、33、34、35、36または37で表されるヒト由来ポリペプチドをコードするDNAとしては、配列番号：31、38、39、40、41、42または43で表される塩基配列を有するDNAなどが用いられる。

また、本発明における配列番号：1、配列番号：15で表されるアミノ酸配列を含有するウシ型ポリペプチド、配列番号：16で表されるアミノ酸配列を含有するラット型ポリペプチド、または配列番号：30で表されるアミノ酸配列を含有するヒト型ポリペプチドをコードするDNAの中で例えば6個以上90個以下（好ましくは6個以上60個以下、より好ましくは9個以上30個以下、さらに好ましくは12個以上30個以下）の部分塩基配列を含有するDNA断片はDNA検出プローブとしても好ましく用いられる。

(iii) 本発明におけるポリペプチドをコードするDNAは、以下の遺伝子工学的手法によって製造することもできる。

本発明のポリペプチドを完全にコードするDNAのクローニング(クローン化)は、以下の方法に従って行えばよい。即ち、(1) 該ポリペプチドの部分塩基配列を有するDNAを合成し、これをプライマーとしてPCR法によって該ポリペプチドを完全にコードするDNAを増幅するか、または、(2) cDNAもしくはゲノムDNA、またはそのDNA断片を適当なベクターに組み込んで得られるDNAライブラリーを、例えば該リガンドポリペプチドの一部あるいは全領域を有するDNA断片もしくは合成DNAを用いて標識したものとハイブリダイゼーションを行うことにより選別すればよい。該ハイブリダイゼーションの方法は、例えば Molecular Cloning (2nd ed. ; J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor

Lab. Press, 1989) などに記載の方法に従って行えばよい。また、DNAライブラリーとして市販のものを使用する場合は、添付の使用説明書に記載の方法に従って行えばよい。

クローン化された該ポリペプチドをコードするDNAは、そのまま使用しても、  
5 または所望により制限酵素で消化した後もしくはリンカーDNAを付加した後に使用してもよい。該DNAは、その5'末端側に翻訳開始コドンとしてのATGを有し、また3'末端側には翻訳終止コドンとしてのTAA、TGAまたはTAGを有していてもよい。これらの翻訳開始コドンや翻訳終止コドンは、適当な合成DNAアダプターを用いて付加することもできる。

10 該ポリペプチドをコードする塩基配列を有するDNAを含有する発現ベクターは、例えば、(1) 本発明のポリペプチドをコードするDNAを含有するDNAから目的とするDNA断片を切り出し、(2) このDNA断片を公知の適当な発現ベクター中のプロモーター配列の下流に連結することにより製造することができる。

該ベクターとしては、大腸菌由来のプラスミド（例、pBR322, pBR3  
15 25, pUC12, pUC13）、枯草菌由来のプラスミド（例、pUB110, pTP5, pC194）、酵母由来プラスミド（例、pSH19, pSH15）、入ファージなどのバクテリオファージ、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、バキュロウイルスなどの動物ウイルスなどが用いられる。該プロモーターとしては、目的のポリペプチドをコードする遺伝子の発現に用いる宿主において、適切  
20 に機能するプロモーターであればいかなるものでもよい。

形質転換する際の宿主がエシェリヒア属菌である場合は、trpプロモーター、lacプロモーター、recAプロモーター、λPLプロモーター、lppプロモーターなどが、宿主がバチルス属菌である場合は、SPO1プロモーター、SPO2プロモーター、penPプロモーターなど、宿主が酵母である場合は、P  
25 HO5プロモーター、PGKプロモーター、GAPプロモーター、ADHプロモーターなどが好ましい。宿主が動物細胞である場合には、SV40由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒートショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、SRαプロモーターなどがそれぞれ好ましく挙げられる。なお、目的のポリペプチドをコードす

る遺伝子を効率よく発現させるためには、エンハンサーを使用することが好ましい。

また、必要に応じて、宿主に合ったシグナル配列を、ポリペプチドまたはその部分ペプチドのN端末側に付加する。宿主がエシェリヒア属菌である場合は、アルカリフォスファターゼ・シグナル配列、Omp A・シグナル配列などが、宿主がバチルス属菌である場合は、 $\alpha$ -アミラーゼ・シグナル配列、サブチリシン・シグナル配列などが、宿主が酵母である場合は、メイティングファクター $\alpha$ ・シグナル配列、インベルターゼ・シグナル配列など、宿主が動物細胞である場合には、例えばインシュリン・シグナル配列、 $\alpha$ -インターフェロン・シグナル配列、抗体分子・シグナル配列などがそれぞれ利用できる。このようにして構築されたポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAを含有するベクターを用いて、形質転換体を製造する。

形質転換する際の宿主としては、例えば公知のエシェリヒア属菌、バチルス属菌、酵母、昆虫、動物細胞などが挙げられる。。

該エシェリヒア属菌の具体例としては、例えばエシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*) K 1 2・DH 1 [プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 第60巻, 160頁 (1968年)], J M 1 0 3 [ヌクイレック・アシズ・リサーチ (Nucleic Acids Research), 第9巻, 309頁 (1981年)], J A 2 2 1 [ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー (Journal of Molecular Biology)], 第120巻, 517頁 (1978年)], H B 1 0 1 [ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー, 第41巻, 459頁 (1969年)], C 6 0 0 [ジェネティックス (Genetics), 第39巻, 440頁 (1954年)] などが挙げられる。

該バチルス属菌の具体例としては、例えばバチルス・サチルス (*Bacillus subtilis*) M I 1 1 4 [ジーン (gene), 第24巻, 255頁 (1983年)], 2 0 7 - 2 1 [ジャーナル・オブ・バイオケミストリー (Journal of Biochemistry), 第95巻, 87頁 (1984年)] などが挙げられる。

該酵母としては、例えばサッカロマイセス セレビスイエ (*Saccharomyces cerevisiae*) A H 2 2, A H 2 2 R<sup>-</sup>, N A 8 7 - 1 1 A, D K D - 5 D, 2 0 B

ー12などが挙げられる。

該昆虫としては、例えばカイコの幼虫などが挙げられる〔前田ら、ネイチャー (Nature) , 第315巻, 592頁 (1985年) 〕。

該動物細胞としては、例えばサル細胞COS-7, Vero, チャイニーズハムスター細胞CHO, DHFR遺伝子欠損チャイニーズハムスター細胞CHO(dhfr<sup>-</sup>CHO細胞), マウスL細胞, マウスミエローマ細胞, ヒトFL細胞などが挙げられる。

エシェリヒア属菌を形質転換するには、例えばプロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー, 第69巻, 2110頁 (1972年)、ジーン, 第17巻, 107頁 (1982年) などに記載の方法に従って行なえばよい。

バチルス属菌を形質転換するには、例えばモレキュラー・アンド・ジェネラル・ジェネティックス (Molecular & General Genetics) , 第168巻, 111頁 (1979年) などに記載の方法に従って行なえばよい。

酵母を形質転換するには、例えばプロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー, 第75巻, 1929頁 (1978年) などに記載の方法に従って行なえばよい。

昆虫細胞を形質転換するには、例えばバイオ/テクノロジー (Bio/Technology) , 第6巻, 47頁 (1988年) などに記載の方法に従って行なえばよい。

動物細胞を形質転換するには、例えばヴィロロジー (Virology) , 第52巻, 456頁 (1973年) に記載の方法に従って行なわれる。

このようにして、ポリペプチドをコードするDNAを含有する発現ベクターで形質転換された形質転換体を得ることができる。

宿主がエシェリヒア属菌、バチルス属菌である形質転換体を培養する際の培地としては液体培地が好ましく、その中には該形質転換体の生育に必要な炭素源、窒素源、無機物その他を含有するよう調製される。該炭素源としては、例えばグルコース、デキストリン、可溶性澱粉、ショ糖などが、該窒素源としては、例えばアンモニウム塩類、硝酸塩類、コーンスチープ・リカー、ペプトン、カゼイン、肉エキス、大豆粕、バレイショ抽出液などの無機または有機物質が、該無機物と

しては、例えば塩化カルシウム、リン酸二水素ナトリウム、塩化マグネシウムなどが挙げられる。また、該培地中には、酵母エキス、ビタミン類、生長促進因子などを必要に応じて添加してもよい。該培地のpHは形質転換体が生育するpHであればいずれでもよいが、pHは通常約5～8が好ましい。

- 5        エシェリヒア属菌を培養する際の培地としては、例えばグルコース、カザミノ酸を含むM9培地〔ミラー (Miller), ジャーナル・オブ・エクスペリメンツ・イン・モレキュラー・ジェネティックス (Journal of Experiments in Molecular Genetics), 431頁, Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1972年〕が好ましい。必要によりプロモーターを効率よく働かせるために、例えば3β-インド
- 10        リルアクリル酸のような薬剤を培地に加えて培養してもよい。宿主がエシェリヒア属菌の場合、培養は通常約15～43℃で約3～24時間行い、必要により、通気や攪拌を加えることもできる。

      宿主がバチルス属菌の場合、培養は通常約30～40℃で約6～24時間行ない、必要により通気や攪拌を加えることもできる。

- 15        宿主が酵母である形質転換体を培養する際、培地としては、例えばバークホルダー (Burkholder) 最小培地〔Bostian, K. L. ら、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 第77巻, 4505頁 (1980年)] や0.5%カザミノ酸を含有するSD培地〔Bitter, G. A. ら、プロシーディングズ・オブ・ザ・ナ
- 20        ショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ザ・ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 第81巻, 5330頁 (1984年)] が挙げられる。

      培地のpHは約5～8に調整するのが好ましい。培養は通常約20℃～35℃で約24～72時間行い、必要に応じて通気や攪拌を加えることもできる。

- 宿主が昆虫である形質転換体を培養する際、培地としては、Grace's Insect
- 25        Medium (Grace, T. C. C., ネイチャー (Nature), 第195巻, 788頁 (1962頁)) に非動化した10%ウシ血清等の添加物を適宜加えたものなどが用いられる。培地のpHは約6.2～6.4に調整するのが好ましい。培養は通常約27℃で約3～5日間行い、必要に応じて通気や攪拌を加えることもできる。

      宿主が動物細胞である形質転換体を培養する際、培地としては、例えば約5～

20%の胎児牛血清を含むMEM培地〔サイエンス (Science), 第122巻, 501頁 (1952年)〕, DMEM培地〔ヴィロロジー (Virology), 第8巻, 396頁 (1959年)〕, RPMI 1640培地〔ジャーナル・オブ・ザ・アメリカン・メディカル・アソシエーション (The Journal of the American Medical Association), 第199巻, 519頁 (1967年)〕, 199培地〔プロシーディング・オブ・ザ・ソサイエティ・フォー・ザ・バイオロジカル・メディシン (Proceeding of the Society for the Biological Medicine), 第73巻, 1頁 (1950年)〕などが挙げられる。pHは約6~8であるのが好ましい。培養は通常約30℃~40℃で約15~60時間行い、必要に応じて通気や攪拌を加えることもできる。

10 上記培養物（培養液および培養菌体あるいは培養細胞）からポリペプチドを分離精製するには、例えば下記の方法に従って行なえばよい。

15 該ポリペプチドが、培養菌体中あるいは培養細胞中に蓄積される場合は、培養後、公知の方法で菌体あるいは細胞を集め、これを適当な緩衝液に懸濁後、公知の超音波処理、リゾチーム処理および／または凍結融解処理などによって菌体あるいは細胞を破壊した後、公知の遠心分離やろ過などの操作により、目的のポリペプチドまたはその部分ペプチドは、抽出液として得ることができる。該緩衝液の中には、尿素や塩酸グアニジンなどの蛋白質変性剤や、トリトンX-100（和光純薬（株）など、登録商標：以下、TMと省略することがある）などの界面活性剤を必要に応じて添加して用いてもよい。

20 一方、培養液中にポリペプチドが分泌される場合には、培養後、まず培養菌体あるいは培養細胞と培養上清とを公知の方法により分離し、培養上清として得ることができる。

25 得られる培養上清または抽出液中に含まれる、ポリペプチドの精製は、自体公知の分離・精製法を適切に組み合わせて行なうことができる。これらの公知の分離、精製法としては、（1）塩析や溶媒沈澱法などの溶解度を利用する方法、（2）透析法、限外ろ過法、ゲルろ過法およびSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法などの主として分子量の差を利用する方法、（3）イオン交換クロマトグラフィーなどの荷電の差を利用する方法、（4）アフィニティークロマトグラフィーなどの特異的親和性を利用する方法、（5）逆相高速液体クロマトグラフィー



などの疎水性の差を利用する方法、(6)等電点電気泳動法やクロマトフォーカシングなどの等電点の差を利用する方法などが挙げられる。

該ポリペプチドが遊離体で得られる場合には、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法によって塩に変換することができ、逆に塩で得られた場合には自体公知の方法あるいはそれに準じる方法により、遊離体または他の塩に変換することができる。

なお、該ポリペプチドの精製前または精製後、これに公知の方法に従い適当な蛋白質修飾酵素を作用させることにより、該ポリペプチドに任意の修飾を加えたり、該ポリペプチド中の配列を部分的に除去することもできる。該蛋白質修飾酵素としては、例えばトリプシン、キモトリプシン、アルギニルエンドペプチダーゼ、プロテインキナーゼ、グリコシダーゼなどが挙げられる。。このようにして得られる変異ポリペプチドの活性は、レセプターとの結合実験や特異抗体を用いたエンザイムイムノアッセイ法などにより測定することができる。

さらにまた、本発明におけるリガンドポリペプチドは、オキシトシン分泌の調節作用、つまり、オキシトシン分泌の促進および抑制作用を有する。即ち、本発明におけるリガンドポリペプチドは、後述の実施例から明らかなように、オキシトシン分泌の促進作用を有するため、オキシトシン分泌不全に関する各種疾患の予防および治療薬に用いることができる。一方、本発明におけるリガンドポリペプチドは、そのレセプター蛋白質との親和性が強いため、投与量が増えるとオキシトシン分泌に対し脱感作(desensitization)が起こる結果、オキシトシン分泌を抑制する作用も有する。この場合、オキシトシン過剰分泌に関する各種疾患の予防および治療薬に用いることができる。

従って、本発明におけるリガンドポリペプチドは、オキシトシン分泌促進剤として、微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出、子宮復古不全、帝王切開術、人工妊娠中絶、乳汁うっ滞、分娩誘発、乳汁分泌不全、不妊症、月経困難症、流産、外傷後ストレス症候群など、好ましくは、微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出、子宮復古不全、帝王切開術、人工妊娠中絶、乳汁うっ滞など、特に好ましくは微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出、子宮復古不全などのオキシトシン分泌に関する各種疾患の改善、予防および治療薬として有用である。

また、本発明におけるリガンドポリペプチドは、オキシトシン分泌抑制剤として、過強陣痛、強直性子宮収縮、胎児仮死、子宮破裂、頸管裂傷、早産、Prader-Willi症候群、月経困難症など、好ましくは、過強陣痛、強直性子宮収縮、胎児仮死、子宮破裂、頸管裂傷、早産、Prader-Willi症候群などのオキシトシン分泌に関係する各種疾患の改善、予防および治療薬として  
5 有用である。

その他、本発明におけるリガンドポリペプチドは、オキシトシン分泌機能を調べるための検査薬としても、また、牛、ヤギ、ブタなどの畜産哺乳動物の乳汁の分泌促進剤などの動物薬としても有用であり、さらには該畜産哺乳動物体内で有用物質を生産させ、これをその乳汁中への分泌することによる有用物質生産など  
10 への応用も期待される。

本発明におけるポリペプチドを前述の医薬または動物薬として使用する場合は、常套手段に従って実施すればよい。例えば、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、該ポリペプチドまたはその塩を生理学的に認められる担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。  
15 20

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラチン、コーンスターチ、トラガントガム、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンの  
25 ような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、前記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤製造法にしたがって処

方することができる。

注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが挙げられ、適当な溶解補助剤、例えばアルコール（例えば、エタノール）、ポリアルコール（例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例えばポリソルベート 80 (TM)、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としてはゴマ油、大豆油などがあげられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。また、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに無菌的に充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えばヒト、哺乳動物（例、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サル、マントヒヒ、チンパンジーなど）に対して投与することができる。

本発明におけるポリペプチドの投与量は、症状などにより差異はあるが、経口投与する場合、一般的に出産時の陣痛微弱の妊婦（体重 60 kg に対し）においては、一回につき通常約 0.1 ~ 100 mg、好ましくは約 1.0 ~ 50 mg、より好ましくは約 1.0 ~ 20 mg である。非経口的に投与する場合は、その1回の投与量は投与対象、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば注射剤の形では出産時の陣痛微弱の妊婦（体重 60 kg に対し）においては、一回につき通常約 0.01 ~ 30 mg 程度、好ましくは約 0.1 ~ 20 mg 程度、より好ましくは約 0.1 ~ 10 mg 程度を静脈注射により投与すればよい。他の動物の場合も、体重 60 kg 当たりに換算した量を投与することができる。

本発明で用いられる G 蛋白共役型レセプター蛋白質（以下、単にレセプター蛋白質と称する場合がある）またはリガンドポリペプチドは例えば、WO 96/05302 または WO 97/24436 に記載に基づいて、調製することができる。

以下に、本発明のレセプター蛋白質に対する本発明のリガンドポリペプチドと該レセプター蛋白質との結合性を变化させる化合物またはその塩を含有してなるオキシトシン分泌調節剤の取得方法およびその用途に関して記載する。

5 本発明のレセプター蛋白質に対する本発明のリガンドポリペプチドと該レセプター蛋白質との結合性を变化させる化合物またはその塩には本発明のリガンドポリペプチドの機能（例、オキシトシン分泌作用等）を促進する化合物またはその塩および本発明のリガンドポリペプチドの機能（例、オキシトシン分泌作用等）を阻害する化合物またはその塩が含まれる。

10 本発明のリガンドポリペプチドはオキシトシン分泌調節作用（オキシトシン分泌促進作用、オキシトシン分泌阻害作用など）など有するため、本発明のリガンドポリペプチドのオキシトシン分泌作用を促進する化合物またはその塩は、オキシトシン分泌促進剤として、微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出、子宮復古不全、帝王切開術、人工妊娠中絶、乳汁うっ滞、分娩誘発、乳汁分泌不全、不妊症、月経困難症、流産、外傷後ストレス症候群など、好ましくは、微弱陣痛、弛緩出血、  
15 胎盤娩出、子宮復古不全、帝王切開術、人工妊娠中絶、乳汁うっ滞など、特に好ましくは、微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出、子宮復古不全などの改善、予防または治療剤などの医薬として使用できる。

一方、本発明のリガンドポリペプチドのオキシトシン分泌作用を阻害する化合物またはその塩は、過強陣痛、強直性子宮収縮、胎児仮死、子宮破裂、頸管裂傷、  
20 早産、Prader-Willi症候群、月経困難症など、好ましくは、過強陣痛、強直性子宮収縮、胎児仮死、子宮破裂、頸管裂傷、早産、Prader-Willi症候群などの改善、予防または治療剤などの医薬として使用できる。

従って、本発明のリガンドポリペプチドは、本発明のリガンドポリペプチドの機能を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニングのための試薬として有用である。  
25

本発明のリガンドポリペプチドの機能を促進または阻害する化合物またはその塩は、例えば、G蛋白質共役型レセプター蛋白質〔例えば、p h G R 3、U H R - 1 など（WO 96/05302、WO 97/24436）〕と本発明のリガンドポリペプチドとの結合性を变化させる化合物をスクリーニングすることによ

って得ることができる。

以下に該スクリーニング方法について記載する。

5 G蛋白質共役型レセプター蛋白質〔例えば、p h G R 3、U H R - 1など（W O 9 6 / 0 5 3 0 2、W O 9 7 / 2 4 4 3 6）〕発現系を構築し、該発現系を用いたレセプター結合アッセイ系を用いることによって、本発明のリガンドポリペプチドとG蛋白質共役型レセプター蛋白質〔例えば、p h G R 3、U H R - 1など（W O 9 6 / 0 5 3 0 2、W O 9 7 / 2 4 4 3 6）〕との結合性を変化させる化合物（例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物など）またはその塩を効率よくスクリーニングすることができる。

10 このような化合物には、(1) G蛋白質共役型レセプターを介して細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内C a <sup>2+</sup>遊離、細胞内c A M P生成、細胞内c G M P生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c - f o sの活性化、p Hの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を有する化合物、(2) 該細胞刺激活性を有しない化合物  
15 (いわゆる、レセプター蛋白質に対するアンタゴニスト)、(3) 本発明のリガンドポリペプチドとG蛋白質共役型レセプター蛋白質との結合力を増強する化合物、(4) 本発明のリガンドポリペプチドとG蛋白質共役型レセプター蛋白質との結合力を減少させる化合物などが含まれる。

すなわち、本発明は (i) レセプター蛋白質またはその塩と、本発明のリガンド  
20 ポリペプチドまたはその塩とを接触させた場合と (ii) レセプター蛋白質またはその塩と、本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩および試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことを特徴とする本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩とレセプター蛋白質またはその塩との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

25 本発明のスクリーニング方法においては、(i) と (ii) の場合における、例えば、該レセプター蛋白質等に対するリガンドの結合量、細胞刺激活性などを測定して、比較することを特徴とする。

より具体的には、

①標識した本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩を、レセプター蛋白質等

に接触させた場合と、標識した本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩および試験化合物を本発明のレセプター蛋白質等に接触させた場合における、標識した本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩の該レセプター蛋白質等に対する結合量を測定し、比較することを特徴とする本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩とレセプター蛋白質等との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

②標識した本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩を、レセプター蛋白質等を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合と、標識した本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩および試験化合物をレセプター蛋白質等を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合における、標識した本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩の該細胞または該膜画分に対する結合量を測定し、比較することを特徴とする本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩とレセプター蛋白質等との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、

③標識した本発明のリガンドポリペプチドを、レセプター蛋白質などをコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したレセプター蛋白質等に接触させた場合と、標識した本発明のリガンドポリペプチドおよび試験化合物をレセプター蛋白質などをコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したレセプター蛋白質等に接触させた場合における、標識した本発明のリガンドポリペプチドの該レセプター蛋白質等に対する結合量を測定し、比較することを特徴とする本発明のリガンドポリペプチドとレセプター蛋白質等との結合性を变化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法などを提供する。

上記のスクリーニング方法のより具体的な説明を以下にする。

まず、本発明のスクリーニング方法に用いるレセプター蛋白質等としては、前記したレセプター蛋白質等を含有するものであれば何れのものであってもよいが、レセプター蛋白質等を含有する哺乳動物の臓器の細胞膜画分が好適である。しかし、特にヒト由来の臓器は入手が極めて困難なことから、スクリーニングに用いられるものとしては、組換え体を用いて大量発現させたヒト由来のレセプター蛋

白質等などが適している。

レセプター蛋白質等を製造するには、レセプターをコードするDNAを哺乳細胞や昆虫細胞で発現することにより行なうことが好ましい。目的とする蛋白質部分をコードするDNA断片には相補DNAが用いられるが、必ずしもこれに制約  
5      されるものではない。例えば、遺伝子断片や合成DNAを用いてもよい。レセプター蛋白質をコードするDNA断片を宿主動物細胞に導入し、それらを効率よく発現させるためには、該DNA断片を昆虫を宿主とするバキュロウイルスに属する核多角体病ウイルス (nuclear polyhedrosis virus ; NPV) のポリヘドリンプロモーター、SV40由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、  
10      メタロチオネインプロモーター、ヒトヒートショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、SR $\alpha$ プロモーターなどの下流に組み込むのが好ましい。発現したレセプターの量と質の検査はそれ自体公知の方法で行うことができる。例えば、文献 [Nambi, P. ら、ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.) , 267巻, 19555~19559頁, 1992年] に記載の方法に  
15      従って行なうことができる。

したがって、上記のスクリーニング方法において、レセプター蛋白質等を含有するものとしては、それ自体公知の方法に従って精製したレセプター蛋白質等であつてもよいし、該レセプター蛋白質等を含有する細胞を用いてもよく、また該レセプター蛋白質等を含有する細胞の膜画分を用いてもよい。

20      上記のスクリーニング方法において、本発明のレセプター蛋白質等を含有する細胞を用いる場合、該細胞をグルタルアルデヒド、ホルマリンなどで固定化してもよい。固定化方法はそれ自体公知の方法に従って行なうことができる。

レセプター蛋白質等を含有する細胞としては、該レセプター蛋白質等を発現した宿主細胞をいうが、該宿主細胞としては、大腸菌、枯草菌、酵母、昆虫細胞、  
25      動物細胞などが好ましい。

細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-E l v e h j e m型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン (Kinematica社製) のよる破碎、超音波による破碎、フレンチブ

レスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速（500 rpm～3000 rpm）で短時間（通常、約1分～10分）遠心し、上清をさらに高速（15000 rpm～30000 rpm）で通常30分～2時間遠心し、  
5 得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現したレセプター蛋白質等と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

該レセプター蛋白質等を含有する細胞や膜画分中のレセプター蛋白質の量は、1細胞当たり $10^3 \sim 10^8$ 分子であるのが好ましく、 $10^5 \sim 10^7$ 分子であるのが好適である。なお、発現量が多いほど膜画分当たりのリガンド結合活性（比活性）が高くなり、高感度なスクリーニング系の構築が可能になるばかりでなく、  
10 同一ロットで大量の試料を測定できるようになる。

本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩とレセプター蛋白質等との結合性を変化させる化合物をスクリーニングするためには、例えば、適当なレセプター蛋白質画分と、標識した本発明のリガンドポリペプチドまたはその塩が必要である。  
15

レセプター蛋白質画分としては、天然型のレセプター蛋白質画分か、またはそれと同等の活性を有する組換え型レセプター蛋白質画分などが望ましい。ここで、同等の活性とは、同等のリガンド結合活性、シグナル情報伝達作用などを示す。

20 標識したリガンドとしては、標識したリガンド、標識したリガンドアナログ化合物などが用いられる。例えば $[^3\text{H}]$ 、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ 、 $[^{35}\text{S}]$ などで標識されたりガンドなどが用いられる。

具体的には、本発明のリガンドポリペプチドとレセプター蛋白質等との結合性を変化させる化合物のスクリーニングを行なうには、まずレセプター蛋白質等を含有する細胞または細胞の膜画分を、スクリーニングに適したバッファーに懸濁することによりレセプター蛋白質標品を調製する。バッファーには、pH4～10（望ましくはpH6～8）のリン酸バッファー、トリス塩酸バッファーなどのリガンドとレセプター蛋白質との結合を阻害しないバッファーであればいずれでもよい。また、非特異的結合を低減させる目的で、CHAPS、Tween-  
25



80<sup>TM</sup>（花王－アトラス社）、ジギトニン、デオキシコレートなどの界面活性剤をバッファーに加えることもできる。さらに、プロテアーゼによるレセプターやリガンドの分解を抑える目的でPMSF、ロイペプチン、E-64（ペプチド研究所製）、ペプスタチンなどのプロテアーゼ阻害剤を添加することもできる。

5 0.1ml～10mlの該レセプター溶液に、一定量（5000cpm～50000cpm）の標識したリガンドを添加し、同時に $10^{-4}$ M～ $10^{-10}$ Mの試験化合物を共存させる。非特異的結合量（NSB）を知るために大過剰の未標識のリガンドを加えた反応チューブも用意する。反応は約0℃～50℃、望ましくは約4℃～37℃で、約20分～24時間、望ましくは約30分～3時間行う。反応後、ガラス繊維濾紙等で濾過し、適量の同バッファーで洗浄した後、ガラス繊維濾紙に残存する放射活性を液体シンチレーションカウンターまたはγ-カウンターで計測する。拮抗する物質がない場合のカウント（ $B_0$ ）から非特異的結合量（NSB）を引いたカウント（ $B_0 - \text{NSB}$ ）を100%とした時、特異的結合量（ $B - \text{NSB}$ ）が、例えば、50%以下になる試験化合物を拮抗阻害能力のある候補物質として選択することができる。

10

また、本発明のリガンドポリペプチドとレセプター蛋白質等との結合性を変化させる化合物スクリーニングする方法を実施するためには、例えば、レセプター蛋白質を介する細胞刺激活性（例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内Ca遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pH

20 の低下などを促進する活性または抑制する活性など）を公知の方法または市販の測定用キットを用いて測定することができる。

具体的には、まず、レセプター蛋白質等を含有する細胞をマルチウェルプレート等に培養する。スクリーニングを行なうにあたっては前もって新鮮な培地あるいは細胞に毒性を示さない適当なバッファーに交換し、試験化合物などを添加して一定時間インキュベートした後、細胞を抽出あるいは上清液を回収して、生成した産物をそれぞれの方法に従って定量する。細胞刺激活性の指標とする物質（例えば、アラキドン酸など）の生成が、細胞が含有する分解酵素によって検定困難な場合は、該分解酵素に対する阻害剤を添加してアッセイを行なってもよい。ま

25

た、cAMP産生抑制などの活性については、フォルスコリンなどで細胞の基礎的産生量を増大させておいた細胞に対する産生抑制作用として検出することができる。

細胞刺激活性を測定してスクリーニングを行なうには、適当なレセプター蛋白質を発現した細胞が必要である。レセプター蛋白質等を発現した細胞としては、天然型の本発明のレセプター蛋白質等を有する細胞株、前述の組換え型レセプター蛋白質等を発現した細胞株などが望ましい。

試験化合物としては、例えば、ペプチド、タンパク、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液などが用いられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

本発明のリガンドポリペプチドとレセプター蛋白質等との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キットは、レセプター蛋白質等、レセプター蛋白質等を含有する細胞、またはレセプター蛋白質等を含有する細胞の膜面分を含有するものなどである。

本発明のスクリーニング用キットの例としては、次のものが挙げられる。

#### 1. スクリーニング用試薬

##### ①測定用緩衝液および洗浄用緩衝液

Hanks' Balanced Salt Solution (ギブコ社製) に、0.05%のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を加えたもの。

孔径0.45  $\mu\text{m}$ のフィルターで濾過滅菌し、4℃で保存するか、あるいは用時調製しても良い。

##### ②G蛋白質共役型レセプター標品

レセプター蛋白質を発現させたCHO細胞を、12穴プレートに $5 \times 10^5$ 個/穴で継代し、37℃、5%CO<sub>2</sub>、95%airで2日間培養したもの。

##### ③標識リガンド

市販の [<sup>3</sup>H]、[<sup>125</sup>I]、[<sup>14</sup>C]、[<sup>35</sup>S]などで標識した本発明のリガンドポリペプチド

水溶液の状態のものを4℃あるいは-20℃にて保存し、用時に測定用緩衝液

にて  $1 \mu\text{M}$  に希釈する。

#### ④リガンド標準液

本発明のリガンドを  $0.1\%$  ウシ血清アルブミン (シグマ社製) を含む PBS で  $1\text{mM}$  となるように溶解し、 $-20^\circ\text{C}$  で保存する。

### 5 2. 測定法

① 12穴組織培養用プレートにて培養したレセプター蛋白質発現 CHO 細胞を、測定用緩衝液  $1\text{ml}$  で2回洗浄した後、 $490 \mu\text{l}$  の測定用緩衝液を各穴に加える。

②  $10^{-3} \sim 10^{-10}\text{M}$  の試験化合物溶液を  $5 \mu\text{l}$  加えた後、標識リガンドを  $5 \mu\text{l}$  加え、室温にて1時間反応させる。非特異的結合量を知るためには試験化合物の代わりに  $10^{-3}\text{M}$  のリガンドを  $5 \mu\text{l}$  加えておく。

③ 反応液を除去し、 $1\text{ml}$  の洗浄用緩衝液で3回洗浄する。細胞に結合した標識リガンドを  $0.2\text{N NaOH}-1\%\text{SDS}$  で溶解し、 $4\text{ml}$  の液体シンチレーター A (和光純薬製) と混合する。

15 ④ 液体シンチレーションカウンター (ベックマン社製) を用いて放射活性を測定し、Percent Maximum Binding (PMB) を次式で求める。

$$\text{PMB} = [ (B - \text{NSB}) / (B_0 - \text{NSB}) ] \times 100$$

PMB : Percent Maximum Binding

B : 検体を加えた時の値

20 NSB : Non-specific Binding (非特異的結合量)

$B_0$  : 最大結合量

本発明のレセプター蛋白質に対する本発明のリガンドポリペプチドと該レセプター蛋白質との結合性を変化させる化合物またはその塩を前述のオキシトシン分泌調節剤として使用する場合は、常套手段に従って実施すればよい。例えば、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に或いは点鼻剤として使用できる。例えば、該化合物またはその塩を生理学的に認められる担体、香味

剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な用量が得られるようにするものである。

- 5       錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラチン、コーンスターチ、トラガントガム、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤
- 10       などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、前記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤製造法にしたがって処方することができる。
- 15       注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが挙げられ、適当な溶解補助剤、例えばアルコール（例えば、エタノール）、ポリアルコール（例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例えばポリソルベート80（<sup>TM</sup>）、HCO-50）など
- 20       と併用してもよい。油性液としてはゴマ油、大豆油などがあげられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。また、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、
- 25       フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに無菌的に充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えばヒトや哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、

イヌ、サル、チンパンジーなど) に対して投与することができる。

上記化合物またはその塩を含有するオキシトシン分泌調節剤の投与量は、症状などにより差異はあるが、経口投与する場合、一般的に出産時の陣痛微弱の妊婦(体重 60 kg に対し) においては、一回につきオキシトシン分泌促進作用を有する化合物またはその塩を、通常約 0.1~100 mg、好ましくは約 1.0~50 mg、より好ましくは約 1.0~20 mg である。非経口的に投与する場合は、その 1 回の投与量は投与対象、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば注射剤の形では出産時の陣痛微弱の妊婦(体重 60 kg に対し) においては、一回につきオキシトシン分泌促進作用を有する化合物またはその塩を、通常約 0.01~30 mg 程度、好ましくは約 0.1~20 mg 程度、より好ましくは約 0.1~10 mg 程度を静脈注射により投与すればよい。他の動物の場合も、体重 60 kg 当たりに換算した量を投与することができる。

本願明細書の配列表の配列番号は、以下の配列を示す。

15 [配列番号：1]

pBOV3 に含まれるウシ視床下部由来リガンドポリペプチドの全長アミノ酸配列を示す。

[配列番号：2]

ウシ視床下部由来リガンドポリペプチド cDNA の全塩基配列を示す。

20 [配列番号：3]

ウシ視床下部由来リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：1 の第 23~53 番目のアミノ酸配列に対応している。

[配列番号：4]

25 ウシ視床下部由来リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：1 の第 23~54 番目のアミノ酸配列に対応している。

[配列番号：5]

ウシ視床下部由来リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：1 の第 23~55 番目のアミノ酸配列に対応している。

[配列番号：6]

ウシ視床下部由来リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：1  
の第34～53番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：7〕

ウシ視床下部由来リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：1  
5 の第34～54番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：8〕

ウシ視床下部由来リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：1  
の第34～55番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：9〕

10 ウシ視床下部由来リガンドポリペプチド（配列番号：3）をコードするDNA  
の塩基配列を示す。

〔配列番号：10〕

ウシ視床下部由来リガンドポリペプチド（配列番号：4）をコードするDNA  
の塩基配列を示す。

15 〔配列番号：11〕

ウシ視床下部由来リガンドポリペプチド（配列番号：5）をコードするDNA  
の塩基配列を示す。

〔配列番号：12〕

ウシ視床下部由来リガンドポリペプチド（配列番号：6）をコードするDNA  
20 の塩基配列を示す。

〔配列番号：13〕

ウシ視床下部由来リガンドポリペプチド（配列番号：7）をコードするDNA  
の塩基配列を示す。

〔配列番号：14〕

25 ウシ視床下部由来リガンドポリペプチド（配列番号：8）をコードするDNA  
の塩基配列を示す。

〔配列番号：15〕

ウシゲノム由来リガンドポリペプチドの全長アミノ酸配列を示す。

〔配列番号：16〕

ラット型リガンドポリペプチドの全長アミノ酸配列を示す。

〔配列番号：17〕

ラット型リガンドポリペプチド cDNA の全塩基配列を示す。

〔配列番号：18〕

- 5      ラット型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：16の第2  
2～52番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：19〕

ラット型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：16の第2  
2～53番目のアミノ酸配列に対応している。

- 10      〔配列番号：20〕

ラット型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：16の第2  
2～54番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：21〕

- 15      ラット型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：16の第3  
3～52番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：22〕

ラット型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：16の第3  
3～53番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：23〕

- 20      ラット型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：16の第3  
3～54番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：24〕

ラット型リガンドポリペプチド（配列番号：18）をコードするDNAの塩基  
配列を示す。

- 25      〔配列番号：25〕

ラット型リガンドポリペプチド（配列番号：19）をコードするDNAの塩基  
配列を示す。

〔配列番号：26〕

ラット型リガンドポリペプチド（配列番号：20）をコードするDNAの塩基

配列を示す。

〔配列番号：27〕

ラット型リガンドポリペプチド（配列番号：21）をコードするDNAの塩基配列を示す。

5      〔配列番号：28〕

ラット型リガンドポリペプチド（配列番号：22）をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：29〕

10      ラット型リガンドポリペプチド（配列番号：23）をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：30〕

ヒト型リガンドポリペプチドの全長アミノ酸配列を示す。

〔配列番号：31〕

ヒト型リガンドポリペプチド cDNA の全塩基配列を示す。

15      〔配列番号：32〕

ヒト型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：30の第23～53番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：33〕

20      ヒト型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：30の第23～54番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：34〕

ヒト型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：30の第23～55番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：35〕

25      ヒト型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：30の第34～53番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：36〕

ヒト型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：30の第34～54番目のアミノ酸配列に対応している。



〔配列番号：37〕

ヒト型リガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列番号：30の第34～55番目のアミノ酸配列に対応している。

〔配列番号：38〕

- 5 ヒト型リガンドポリペプチド（配列番号：32）をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：39〕

ヒト型リガンドポリペプチド（配列番号：33）をコードするDNAの塩基配列を示す。

- 10 〔配列番号：40〕

ヒト型リガンドポリペプチド（配列番号：34）をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：41〕

- 15 ヒト型リガンドポリペプチド（配列番号：35）をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：42〕

ヒト型リガンドポリペプチド（配列番号：36）をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：43〕

- 20 ヒト型リガンドポリペプチド（配列番号：37）をコードするDNAの塩基配列を示す。

〔配列番号：44〕

- 25 本発明のリガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。ここで、第10番目のXaaはAlaまたはThr、第11番目のXaaはGlyまたはSer、第21番目のXaaはH、Gly、またはGlyArgを示す。

〔配列番号：45〕

本発明のリガンドポリペプチドのアミノ酸配列を示す。配列中、第10番目のXaaはThrもしくはAla、第11番目のXaaはGlyもしくはSerを示す。

以下に実施例および製剤例を示して、本発明をより詳細に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

## 5 実施例 1

ラット臓器中のPrRP (19P2-L31) の分布測定

ラット臓器は、雄性Wistarラットを断頭し各臓器を取り出して組織重量を測定後、直ちに液体窒素により凍結した。臓器からのPrRP (19P2-L31) の抽出方法は、まず、各臓器に対しその10倍量の蒸留水を添加し、沸騰水中で10分間加熱処理しプロテアーゼを失活させた後、水中で冷却した。氷酢酸 (最終濃度1N)、ペプスタチン (最終濃度 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ ) およびホスホラミドン (最終濃度 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を添加し、ポリトロンホモジナイザー (KINEMATICA社製) にて1分間ホモジネート後、 $17,000\times g$ 、30分間遠心遠心した。得られた臓器抽出液を、Sep-Pak Plus C18カートリッジ265mg (Waters社製) で濃縮した後、Nature、第393巻、272~276頁(1998)およびWO 97/24436に記載のPrRP (19P2-L31) を既報 (特願平10-140293号, WO 99/60112号) のサンドイッチ-EIA系により定量した。臓器抽出液の濃縮は、まず4%酢酸含有86%エタノール4ml、メタノール4ml、蒸留水4ml、4%酢酸4mlを順次ながして活性化したSep-Pak Plus C18カートリッジに臓器抽出液を添加後、10mlの蒸留水で洗浄後、4%酢酸含有86%エタノール4ml、メタノール4mlで溶出し、37℃の窒素ガス気流下で濃縮する。濃縮画分を0.25mlのバッファーC [10%ブロックエース、0.2%BSA、0.4M NaCl、0.05% CHAPS [3-[(コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ]プロパンスルホン酸] を含む0.02Mリン酸緩衝液、pH7] 中で再構成しサンドイッチ-EIAにより定量した。結果を図1に示した。ラット下垂体後葉には $0.53\pm 0.06\text{ pmol/g tissue}$  (mean $\pm$ SEM, n=5) のPrRP (19P2-L31) の免疫活性が検出された。

## 実施例 2

PrRP (19P2-L31) の第三脳室内投与が血漿中のオキシトシン分泌量に及ぼす影響

- 5 成熟Wistar系雄性ラット（手術時体重350～380g）をペントバルビタール50mg/kgの腹腔内投与にて麻酔し、ラット脳定位固定装置に固定した。切歯用バーはインターオーラルラインから3.3mm低くした。頭蓋骨を露出し、第三脳室にガイドカニューレAG-12（内径0.4mm、外径0.5mm、エイコム）を埋め込むために歯科用ドリルを用いて骨に穴を開けた。また、  
10 その周囲4箇所アンカービスを埋めた。ステンレス製ガイドカニューレ、AG-12を、その先端が第三脳室の上部に位置するように挿入した。定位座標は、PaxinosとWatson（1986）のアトラスに従い、インターオーラルラインより、AP: +7.1mm、L: 0.0mm、H: +2.0mmとした。ガイドカニューレは瞬間接着剤と歯科用セメントおよびアンカービスで頭蓋骨に  
15 固定した。ガイドカニューレにはステンレス製ダミーカニューレ、AD-12（外径0.35mm、エイコム社）を挿入し、キャプナイト（エイコム社）で固定した。術後、ラットは個別のケージで飼育した。

- ガイドカニューレを埋め込んでから約1週間飼育して術後の回復を待ち、自由行動下採血用の手術を行った。上記手術を施したラットをペントバルビタール5  
20 0mg/kgの腹腔内投与にて麻酔した。解剖用パッドの上に背位に固定し、左側の頸静脈を露出させた。ポリエチレンチューブSP35（内径0.5mm、外径0.9mm、夏目製作所）を約30cmの長さに切り、200単位/mlのヘパリン含有生理食塩水で満たした後、頸静脈に約4.5cm挿入し固定した。チューブのもう一端は背側の皮下を通して頸部（背側）より露出させた。

- 25 術後一晩待ってから、PrRP (19P2-L31) 投与30分前に用量1mlのツベルクリン用注射筒と25ゲージ注射針（いずれもテルモ社）を用いて400 $\mu$ lの血液を採取した。血液凝固を防止するため、注射筒には予め200単位/mlのヘパリンを含有する生理食塩水を20 $\mu$ l入れておいた。ラットの頭蓋骨に装着したキャプナイトとダミーカニューレを取り外し、代わりにテフロ

ンチューブ（長さ50cm、内径0.1mm、外径0.35mm、エイコム社）につないだステンレス製マイクロインジェクションカニューレ（内径0.17mm、外径0.35mm、エイコム社）を挿入した。マイクロインジェクションカニューレの長さは、その先端1mmがガイドカニューレから露出するように調節しておいた。テフロンチューブの一方をマイクロシリンジポンプにつなぎ、0.5%ウシ血清アルブミン（BSA）を含むリン酸緩衝生理食塩水またはPrRP（19P2-L31）10nmolを溶解させた0.5%BSAを含むリン酸緩衝生理食塩水を5 $\mu$ l/分の流速で計10 $\mu$ lを第三脳室に注入した。注入終了後15分待ってからマイクロインジェクションカニューレを取り外し、再びダメージカニューレをキャップナイトで固定した。脳室内投与を開始する直前、および脳室内投与の開始時点から5、15、30、45、60分後に頸静脈より400 $\mu$ lずつ採血した。採血した血液は微量高速冷却遠心機（MR-150、トミー精工）を用いて遠心（5,000rpm、10分間）し、上清（血漿）を回収した。血漿中に含まれるオキシトシンをラジオイムノアッセイ（Peninsula社）を用いて測定した。図2に示すごとく10nmolのPrRP（19P2-L31）を第三脳室に投与5分後において対象群に比し、約2倍の血中オキシトシン濃度の上昇がみられた。

#### 製剤例 1

20 日局注射用蒸留水50mlに実施例21で得られた化合物50mgを溶解した後、日局注射用蒸留水を加えて100mlとした。この溶液を滅菌条件下で濾過し、次にこの溶液1mlずつを取り滅菌条件下注射用バイアルに充填し凍結乾燥し密閉した。

#### 25 製剤例 2

日局注射用蒸留水50mlに実施例21で得られた化合物100mgを溶解した後、日局注射用蒸留水を加えて100mlとした。この溶液を滅菌条件下で濾過し、次にこの溶液1mlずつを取り滅菌条件下注射用バイアルに充填し凍結乾燥し密閉した。

## 産業上の利用可能性

本発明におけるリガンドポリペプチドは、オキシトシン分泌の調節作用（オキシトシン分泌の促進および抑制作用）を有する。即ち、本発明におけるリガンドポリペプチドは、まずオキシトシン分泌の促進作用を有するため、オキシトシン分泌不全に関係する各種疾患の予防および治療薬に用いることができる。一方、本発明におけるリガンドポリペプチドは、そのレセプター蛋白質との親和性が強い

5 ため、投与量が増えるとオキシトシン分泌に対し脱感作（desensitization）が起こる結果、オキシトシン分泌を抑制する作用も有する。この場合、オキシトシン過剰分泌に関係する各種疾患の予防および治療薬に用いることができる。

従って、本発明におけるリガンドポリペプチドは、オキシトシン分泌促進剤として、微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出、子宮復古不全、帝王切開術、人工妊娠中絶、乳汁うっ滞、分娩誘発、乳汁分泌不全、不妊症、月経困難症、流産、外傷後

15 ストレス症候群、など、好ましくは、微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出、子宮復古不全、帝王切開術、人工妊娠中絶、乳汁うっ滞など、特に好ましくは微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出、子宮復古不全などのオキシトシン分泌に関係する各種疾患の改善、予防および治療薬として有用である。

また、本発明におけるリガンドポリペプチドは、オキシトシン分泌抑制剤として、過強陣痛、強直性子宮収縮、胎児仮死、子宮破裂、頸管裂傷、早産、Prader-Willi症候群、月経困難症など、好ましくは、過強陣痛、強直性子宮収縮、胎児仮死、子宮破裂、頸管裂傷、早産、Prader-Willi症候群などのオキシトシン分泌に関係する各種疾患の改善、予防および治療薬として

20 有用である。

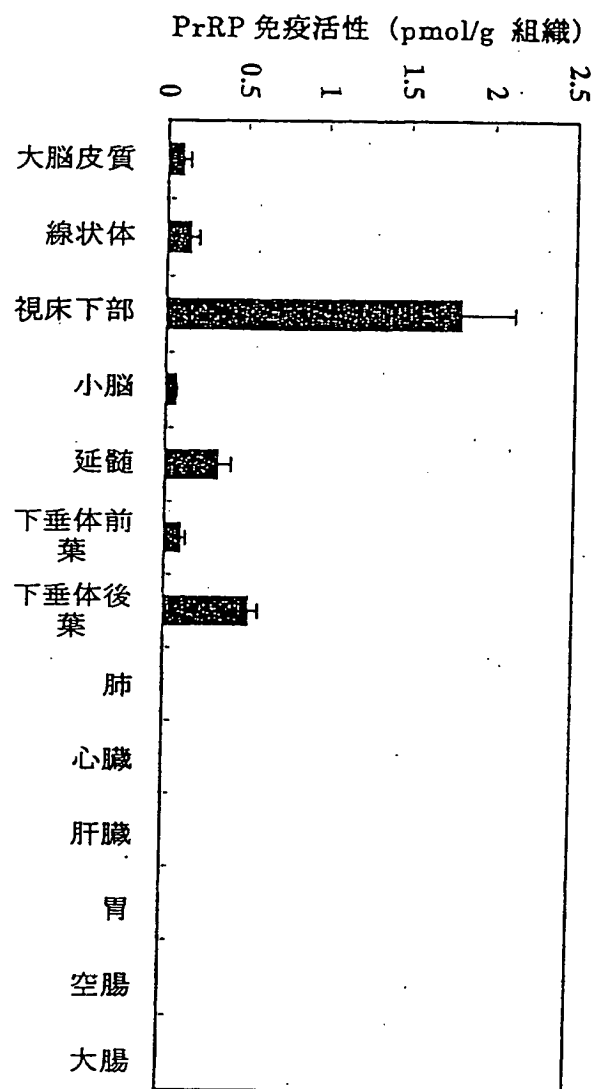
その他、本発明におけるリガンドポリペプチドは、オキシトシン分泌機能を調べるための検査薬としても、また、牛、ヤギ、ブタなどの畜産哺乳動物の乳汁の分泌促進剤などの動物薬としても有用であり、さらには該畜産哺乳動物体内で有用物質を生産させ、これをその乳汁中への分泌することによる有用物質生産などへの応用も期待される。

25

## 請求の範囲

1. G蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩を含有するオキシトシン分泌調節剤。
- 5 2. G蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩が、配列番号：44で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはそのアミド、エステルもしくはその塩である請求項1記載のオキシトシン分泌調節剤。
3. 配列番号：44で表されるアミノ酸配列が、配列番号：3、18または32  
10 である請求項2記載のオキシトシン分泌調節剤。
4. G蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩が、配列番号：45で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはそのアミド、エステルもしくはその塩である請求項1記載のオキシトシン分泌調節剤。
- 15 5. 配列番号：45で表されるアミノ酸配列が、配列番号：6、21または35である請求項4記載のオキシトシン分泌調節剤。
6. オキシトシン分泌促進剤である請求項1記載のオキシトシン分泌調節剤。
7. 微弱陣痛、弛緩出血、胎盤娩出前後、子宮復古不全、帝王切開術、人工妊娠中絶または乳汁うっ滞の改善、予防または治療薬である請求項6記載のオキシト  
20 シン分泌促進剤。
8. オキシトシン分泌を調節するためのG蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩の使用。
9. オキシトシン分泌調節剤を製造するためのG蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩の使用。
- 25 10. G蛋白共役型レセプター蛋白質に対するリガンドペプチドまたはその塩を、オキシトシン分泌不全に関係する疾患を有する哺乳動物に投与することを特徴とするオキシトシン分泌を調節する方法。

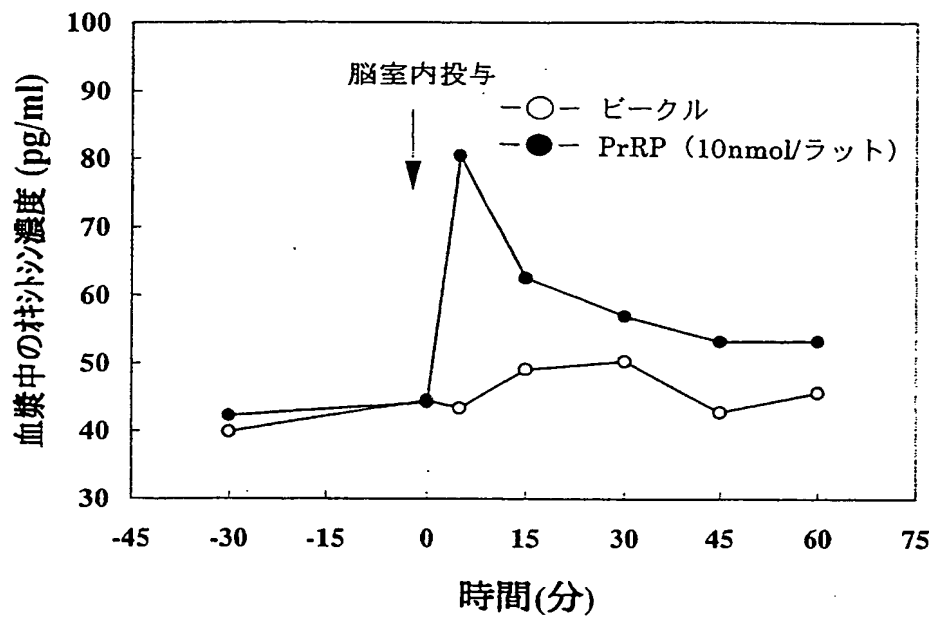
図1



ラット臓器中の PrRP 免疫活性組織分布

図2

雄性ウイスターラット第三脳室へ投与したPrRPの  
血漿中のオキトシン濃度に対する効果





## 提出書類の様式及び作成要領について

【備考】

- 陳述明

特許庁長官 殿

本書に添付したフレキシブルディスクに記録した塩基配列又はアミノ酸配列は、明細書に記載した塩基配列又はアミノ酸配列を忠実にコード化したものであって、内容を変更したものでないことを陳述します。

平成 年 月 日

## 国際出願の表示

發明の名称  
特許出願人、代理人

(印)

- ハ 特許出願人（代表者）の姓・名等の情報（特許出願の表示）は、原則として、「出願人氏名（フルネーム）」、「代理人氏名（名称）」、「国際出願の表示」、「発明の名称」、「使用した文字コード」、「配列を記録したファイル名」及び「連絡先（電話番号及び担当者の氏名）」の項目を付けて記載することにより作成する。
- ニ 第50条の3第1項の規定による命令に基づき配列表を記載した表面を提出するときは、「付添書類の目録」の欄に次のように記載し、「5 補正の対象」及び「6 補正の内訳」の欄は設けない。
- 5 添付書類の目録 1 配列表を記載した表面 1 添
- 8 用紙は、日本工業規格A列4号（横21cm、縦29.7cm）の大きさとし、可視性のある、丈夫な白色の、滑らかな、光沢のない紙を用いるものとする。折りずみ、折らずに片面のみを用い、用紙に色、文字、図、記号、線、寸線等を記載してはならない。
- 9 用紙は、しわ及び裂け目等がなくてはならない。
- 10 余白は、原則として用紙の上端、右端及び下端におのおの2cm並びに左端に2.5cmをとるものとし、少なくともその上端及び左端についてはおのおの4cm並びにその右端及び下端についてはおのおの3cmを超えないようにする。この場合において、余白は、完全に空白とすることができ、ただし、上端の余白の左端であって上端から1.5cm以内には番号記号（断章に記載される場合に限り）を付することができる。
- 11 手続補正書は、タイプ印字又は印刷によるものとし、写真、静電的方法、写真オフセット及びマイクロフィルムによって直接に任意の断章の複製をすることができるように作成する。
- 12 手続補正書のすべての用紙には、ページの数字により1から始まる連番記号を用いる（余白部分を除く）。その上端は下端の中央に付する。
- 13 タイプ印字の用紙において行の間隔は、少なくとも5mm以上をとる。ただし、備考1、6、9においてローマ字を用いて行の間隔は、1.5文字の幅をとる。
- 14 記載事項は、4号文字の大きさの文字（備考1、6、9においてローマ字を用いるときは、大文字の大きさが約0.21cm以上の文字）により、かつ、暗色の退色性のない色であって備考9に定める要件を満たすものにて記載する。
- 15 「国際出願の表示」の欄には、既に特許庁から国際出願番号の通知を受けている場合には、その番号を「PCT / P / ○ / ○ / ○ / ○」の順に記載し、国際出願番号の通知を受ける前の場合には、その国際出願の提出日を月年順の順に「○○.○○.○○」提出日の国際出願（年）については西暦記号の下2桁）のように記載するとともに、特許番号（断章に記載されている場合に限り。）を合わせて記載する。
- 16 「氏名（名称）」は、自然人にあつては姓及び名を姓、名の順に記載し、また、法人にあつてはその名称を記載する。
- 17 「氏名（名称）」は、個人、何所、何所、何所、大文字、小文字、阿、何希地、何号）のように詳しく記載するとともに、略称併記する。
- 18 氏名若しくは名称又はあて名には、これらの音訳又は英語への訳記をローマ字を用いて併記する。
- 19 「国籍」は、出願人又は代表者がその国籍である国の国名を記載する。
- 20 「住所」は、出願人又は代表者がその居住者である国の国名を記載する。
- 21 国名を記載する欄においては、特許庁長官が指定する国の名称を日本語及び英語により表示する。
- 22 「代理人」の欄には、その氏名を記載し、その氏名の前に「弁護士」、「弁理士」又は「法定代理人」のうち該当するものを記載する。
- 23 代理人による場合は本人の印は不要とし、代理人によらないときは「代理人」の欄を設けるには及ばない。
- 24 用紙に用紙は、原則として縁清、訂正、直書き及び行間挿入を付してはならない。
- 25 手続補正書の用紙は、容易に分離し、訂正、直書きすることができるように例えばクリップ等を用いてとじる。
- 26 「あて名」は出願人、代表者、代理人又は複代理人各人ごとに1つずつあて名のみを記載する。

様式第23 (第62条関係)

答 非 也

特許庁審査官

- 1 国際出願の表示
- 2 出願人（代表者）  
氏名（名称）  
あて名  
国籍  
住所
- 3 代理人  
氏名  
あて名
- 4 通知の日付
- 5 答弁の内容
- 6 係付書類の目録

〔備考〕

- 様式第15 (第31条関係)

正 補 綫 手

特許庁長官

(特許庁審査官)

- 1 国際出願の表示
- 2 出願人（代表者）  
氏名（名称）  
あて名  
国籍  
住所
- 3 代理人  
氏名  
あて名
- 4 補正命令の日付
- 5 補正の対象
- 6 補正の内容
- 7 送付書類の目録

## VI. ある種の引用文献

## 1. ある種の公表された文書(PCT規則70.10)

出願番号 特許番号	公知日 (日. 月. 年)	出願日 (日. 月. 年)	優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年)
WO, 98/58962, A1 「PX」	30.12.98	22.06.98	23.06.97

## 2. 書面による開示以外の開示(PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類	書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年)	書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年)
-----------------	------------------------------	--

## I. 見解の基礎

1. この見解書は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に回答するために提出された差替え用紙は、この見解書において「出願時」とする。)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                                     |   |       |        |                       |
|-------------------------------------|---|-------|--------|-----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書        | 第 | _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの           |
| 明細書                                 | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| 明細書                                 | 第 | _____ | ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの        |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 | _____ | 項、     | 出願時に提出されたもの           |
| 請求の範囲                               | 第 | _____ | 項、     | PCT 19条の規定に基づき補正されたもの |
| 請求の範囲                               | 第 | _____ | 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| 請求の範囲                               | 第 | _____ | 項、     | 付の書簡と共に提出されたもの        |
| <input type="checkbox"/> 図面         | 第 | _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの           |
| 図面                                  | 第 | _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| 図面                                  | 第 | _____ | ページ/図、 | 付の書簡と共に提出されたもの        |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 | _____ | ページ、   | 出願時に提出されたもの           |
| 明細書の配列表の部分                          | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| 明細書の配列表の部分                          | 第 | _____ | ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの        |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
- ☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
- ☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき見解書を作成した。

- ☒ この国際出願に含まれる書面による配列表
- ☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
- ☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
- ☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
- ☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
- ☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ
- ☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項
- ☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この見解書は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

1. 次に、次に関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

- ☒ 請求の範囲 1, 8, 10

請求の範囲 8, 10 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 第 3 条 4 (a) (i) 及び PCT 規則 67.1 (i V) の規定により、この国際予備審査機関が国際予備審査を行うことを要しない対象に係るものである。

- 「G 蛋白共役型レセプタータンパク質に対するリガンドペプチド」は、当業者がどのようなペプチドがそれに含まれるのかを理解することができないため、有意義な国際調査をすることができない。

- ☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 \_\_\_\_\_ が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

- ☒ 請求の範囲 1, 8, 10 について、国際調査報告が作成されていない。

2. ヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、見解書を作成することができない。

- ☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

- ☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第13条 (PCT規則66.2(a)(ii)に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	2-7, 9	有
	請求の範囲		無
進歩性 (IS)	請求の範囲	2-7, 9	有
	請求の範囲		無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-7, 9	有
	請求の範囲	8, 10	無

## 2. 文献及び説明

文献1: HINUMA et al, 'A prolactin-releasing peptide in the brain',  
NATURE, 1998年5月21日, 第393巻, pp272-276、全文

文献2: BOERSMA et al, 'Immunocytochemical localization of neuropeptide FF  
(FMRF amide-like peptide) in the hypothalamo-neurohypophyseal system of  
wistar and brattleboro rats by light and electron microscopy',  
THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY, 1993年, 第336巻, pp555-570、  
全文

請求の範囲2-7, 9

文献1には、PrRPが視床下部に局在しており、プロラクチンの分泌を促進していることが記載されているが、オキシトシンの分泌調節についての記載はなく、またプロラクチンの分泌促進とオキシトシンの分泌調節との関連については国際調査報告に引用されたいずれの文献にも記載されておらず、また当業者にとって自明なものでもない。

文献2には、PrRPと同じくFMRF Amide-like peptideの1つであるNeuropeptide FFが、視床下部の神経葉に局在しており、オキシトシンとバソプレッシンの分泌に関与している可能性があることが記載されているが、PrRPがオキシトシンの分泌を調節しているとの記載はなく、また全てのFMRF Amide-like peptideに属するペプチドがオキシトシンの分泌調節に関与していることは国際調査報告に引用されたいずれの文献にも記載されておらず、また当業者にとって自明なものでもない。

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

出願人代理人

高橋 秀一

殿

あて名

〒 532-0024

大阪府大阪市淀川区十三本町2-17-85

武田薬品工業株式会社大阪工場内

00.8.20

PCT見解書

(法第13条)

(PCT規則66)

受付

'00.6.22

知的財産部

発送日  
(日.月.年)

20.06.00

出願人又は代理人

の書類記号

2584WOOP

応答期間

上記発送日から 2 月以内

国際出願番号

PCT/J P99/07199

国際出願日

(日.月.年)

22.12.99

優先日

(日.月.年)

25.12.98

国際特許分類 (IPC)

Int. Cl<sup>7</sup>

A61K38/17

出願人 (氏名又は名称)

武田薬品工業株式会社

1. これは、この国際予備審査機関が作成した 1 回目の見解書である。

2. この見解書は、次の内容を含む。

I ☒ 見解の基礎II ☐ 優先権III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解の不作成IV ☐ 発明の単一性の欠如V ☒ 法第13条 (PCT規則66.2(a)(ii)) に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明VI ☒ ある種の引用文献VII ☐ 国際出願の不備VIII ☐ 国際出願に対する意見

3. 出願人は、この見解書に応答することが求められる。

いつ?

上記応答期間を参照すること。この応答期間に間に合わないときは、出願人は、法第13条 (PCT規則66.2(d)) に規定するとおり、その期間の経過前に国際予備審査機関に期間延長を請求することができる。ただし、期間延長が認められるのは合理的な理由があり、かつスケジュールに余裕がある場合に限られることに注意されたい。

どのように?

法第13条 (PCT規則66.3) の規定に従い、答弁書及び必要な場合には、補正書を提出する。補正書の様式及び言語については、法施行規則第62条 (PCT規則66.8及び66.9) を参照すること。

なお

補正書を提出する追加の機会については、法施行規則第61条の2 (PCT規則66.4) を参照すること。

補正書及び/又は答弁書の審査官による考慮については、PCT規則66.4の2を参照すること。審査官との非公式の連絡については、PCT規則66.6を参照すること。

応答がないときは、国際予備審査報告は、この見解書に基づき作成される。

4. 国際予備審査報告作成の最終期限は、PCT規則69.2の規定により 25.04.01 である。

名称及びあて先

日本国特許庁 (IPEA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

4 C

2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3450

担当者	G・M		Pat・M	部長
特許	協力	条約		

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

出願人代理人  
高橋 秀一

殿

あて名  
〒 532-0024  
大阪府大阪市淀川区十三本町2-7-85  
武田薬品工業株式会社大阪工場内

PCT

国際予備審査報告の送付の通知書

（法施行規則第57条）  
〔PCT規則71.1〕



発送日  
（日・月・年）

28.09.00

出願人又は代理人  
の書類記号 2584WOOP

重要な通知

国際出願番号  
PCT/J P 99/07199

国際出願日  
（日・月・年） 22.12.99

優先日  
（日・月・年） 25.12.98

出願人（氏名又は名称）  
武田薬品工業株式会社

1. 国際予備審査機関は、この国際出願に関して国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、それらをこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。
2. 国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、すべての選択官庁に通知するために、それらの写しを国際事務局に送付する。
3. 選択官庁から要求があったときは、国際事務局は国際予備審査報告（付属書類を除く）の英語の翻訳文を作成し、それをその選択官庁に送付する。
4. 注 意

出願人は、各選択官庁に対し優先日から30月以内に（官庁によってはもっと遅く）所定の手続（翻訳文の提出及び国内手数料の支払い）をしなければならない（PCT39条（1））（様式PCT/IB/301とともに国際事務局から送付された注を参照）。

国際出願の翻訳文が選択官庁に提出された場合には、その翻訳文は、国際予備審査報告の付属書類の翻訳文を含まなければならない。

この翻訳文を作成し、関係する選択官庁に直接送付するのは出願人の責任である。

選択官庁が適用する期間及び要件の詳細については、PCT出願人の手引き第Ⅱ巻を参照すること。

名称及びあて名  
日本国特許庁（IPEA/J P）  
郵便番号100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員  
特許庁長官

4C 2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3450

様式PCT/IPEA/416（1992年7月）

（添付用紙の注意書きを参照）

## 注 意

### 1. 文献の写しの請求について

国際予備審査報告に記載された文献であつて国際調査報告に記載されていない文献の複写

特許庁にこれらの引用文献の写しを請求することができますが、日本特許情報機構でもこれらの引用文献の複写物を販売しています。日本特許情報機構に引用文献の複写物を請求する場合は下記の点に注意してください。

〔申込方法〕

(1) 特許（実用新案・意匠）公報については、下記の点を明記してください。

○特許・実用新案及び意匠の種類

○出願公告又は出願公開の年次及び番号（又は特許番号、登録番号）

○必要部数

(2) 公報以外の文献の場合は、下記の点に注意してください。

○国際予備審査報告の写しを添付してください（返却します）。

〔申込み及び照会先〕

〒100 東京都千代田区霞が関3-4-2 商工会館・弁理士会館ビル  
財団法人 日本特許情報機構 サービス課  
TEL 03-3503-3900

注) 特許庁に対して文献の写しの請求をすることができる期間は、国際出願日から7年です。

### 2. 各選択官庁に対し、国際出願の写し（既に国際事務局から送達されている場合は除く）及びその所定の翻訳文を提出し、国内手数料を支払うことが必要となります。その期限については各国ごとに異なりますので注意してください。（条約第22条、第39条及び第64条(2)(a)(i)参照）



P C T

## 国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
〔PCT36条及びPCT規則70〕

出願人又は代理人 の書類記号 2584WOOP	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P99/07199	国際出願日 (日.月.年) 22.12.99	優先日 (日.月.年) 25.12.98
国際特許分類 (IPC) Int. Cl <sup>7</sup> A61K38/17		
出願人 (氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☒ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 31.01.00	国際予備審査報告を作成した日 12.09.00	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 田村 聖子 電話番号 03-3581-1101 内線 3450	4 C 2938

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (1998年7月)

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                                     |                |                       |
|-------------------------------------|----------------|-----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書        | 第 _____ ページ、   | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> 明細書        | 第 _____ ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 明細書        | 第 _____ ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの        |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 _____ 項、     | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 _____ 項、     | PCT 19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 _____ 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲      | 第 _____ 項、     | 付の書簡と共に提出されたもの        |
| <input type="checkbox"/> 図面         | 第 _____ ページ/図、 | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> 図面         | 第 _____ ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 図面         | 第 _____ ページ/図、 | 付の書簡と共に提出されたもの        |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ ページ、   | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ ページ、   | 付の書簡と共に提出されたもの        |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

## Ⅲ. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

1. 次に関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 1, 8, 10

理由:

☒ この国際出願又は請求の範囲 8, 10 は、国際予備審査をすることを要しない次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

請求の範囲 8, 10 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 第 34 条 (4) (a) (i) 及び PCT 規則 67.1 (i V) の規定により、この国際予備審査機関が国際予備審査を行うことを要しない対象に係るものである。

☒ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 1 の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

「G 蛋白共役型レセプタータンパク質に対するリガンドペプチド」は、当業者がどのようなペプチドがそれに含まれるのかを理解することができないため、見解を示すことができない。

☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 \_\_\_\_\_ が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

☒ 請求の範囲 1, 8, 10 について、国際調査報告が作成されていない。

2. ヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書 C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

2-7, 9

有

請求の範囲

無

進歩性(IS)

請求の範囲

2-7, 9

有

請求の範囲

無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲

1-7, 9

有

請求の範囲

無

## 2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: HINUMA et al, 'A prolactin-releasing peptide in the brain', NATURE, 1998年5月21日, 第393巻, pp272-276、全文  
文献2: BOERSMA et al, 'Immunocytochemical localization of neuropeptide FF(FMRF amide-like peptide) in the hypothalamo-neurohypophyseal system of wistar and brattleboro rats by light and electron microscopy', THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY, 1993年, 第336巻, pp555-570、全文

## 説明

請求の範囲2-7, 9

文献1には、PrRPが視床下部に局在しており、プロラクチンの分泌を促進していることが記載されているが、オキシトシンの分泌調節についての記載はなく、またプロラクチンの分泌促進とオキシトシンの分泌調節との関連については国際調査報告に引用されたいずれの文献にも記載されておらず、また当業者にとって自明なものでもない。

文献2には、PrRPと同じくFMRF Amide-like peptideの1つであるNeuropeptide FFが、視床下部の神経葉に局在しており、オキシトシンとバソプレッシンの分泌に関与している可能性があることが記載されているが、PrRPがオキシトシンの分泌を調節しているとの記載はなく、また全てのFMRF Amide-like peptideに属するペプチドがオキシトシンの分泌調節に関与していることは国際調査報告に引用されたいずれの文献にも記載されておらず、また当業者にとって自明なものでもない。

## VI. ある種の引用文献

## 1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

出願番号 特許番号	公知日 (日. 月. 年)	出願日 (日. 月. 年)	優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年)
WO98/58962, A1 「EX」	30.12.98	22.06.98	23.06.97

## 2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類	書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年)	書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年)
-----------------	------------------------------	--

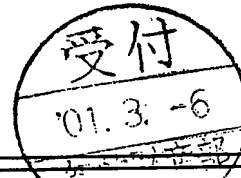
**PCT**  
**NOTIFICATION OF TRANSMITTAL**  
**OF COPIES OF TRANSLATION**  
**OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY**  
**EXAMINATION REPORT**

(PCT Rule 72.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TAKAHASHI, Shuichi  
Osaka Plant of Takeda Chemical  
Industries, Ltd.  
17-85, Jusohonmachi 2-chome  
Yodogawa-ku  
Osaka-shi  
Osaka 532-0024  
JAPON



Date of mailing (day/month/year) 15 February 2001 (15.02.01)	
Applicant's or agent's file reference 2584WO0P	<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>
International application No. PCT/JP99/07199	International filing date (day/month/year) 22 December 1999 (22.12.99)
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al	

**1. Transmittal of the translation to the applicant.**

The International Bureau transmits herewith a copy of the English translation made by the International Bureau of the international preliminary examination report established by the International Preliminary Examining Authority.

**2. Transmittal of the copy of the translation to the elected Offices.**

The International Bureau notifies the applicant that copies of that translation have been transmitted to the following elected Offices requiring such translation:

EP,AU,CA,CN,CZ,NO,NZ,PL,RO,RU,SK,US

The following elected Offices, having waived the requirement for such a transmittal at this time, will receive copies of that translation from the International Bureau only upon their request:

AP,EA,AE,AL,AM,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,CR,CU,DM,EE,GD,GE,HR,HU,ID,IL,IN,IS,KG,KR,KZ,LC,LK,LR,LT,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MX,SG,SI,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UZ,VN,YU,ZA,OA

**3. Reminder regarding translation into (one of) the official language(s) of the elected Office(s).**

The applicant is reminded that, where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report.

It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned (Rule 74.1). See Volume II of the PCT Applicant's Guide for further details.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Eliott Peretti
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/17

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/00-58

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2000年
日本国登録実用新案公報	1994-2000年
日本国実用新案登録公報	1996-2000年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN)	EMBASE (STN)
MEDLINE (STN)	REGISTRY (STN)
BIOSIS (STN)	

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P X	MARUYAMA et al, 'Central administration of prolactin-releasing peptide stimulates oxytocin release in rats', Neuroscience Letters, 1999年, 第276巻, pp193-196、全文	1-7, 9
P X	WO, 98/58962, A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD.), &, JP, 11-71300, A, 請求項9	7
P A	MARUYAMA et al, 'Immunocytochemical localization of prolactin-releasing peptide in the rat brain', Endocrinology, 1999年, 第140巻, 第5号, pp2326-2333, 全文	1-7, 9

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14.03.00

国際調査報告の発送日

28.03.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
郵便番号100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

印

4C

2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3450

## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 8, 10 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、  
請求の範囲 8, 10 は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 第17条(2)(a)(i) 及び PCT 規則 39.1(iV) の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☒ 請求の範囲 1 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、  
「G 蛋白共役型レセプタータンパク質に対するリガンドペプチド」は当業者がどのようなペプチドがそれに含まれるのかを理解することができないため、有意義な国際調査をすることができない。
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/17

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/00-58Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2000  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2000 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2000Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN) EMBASE (STN)  
MEDLINE (STN) REGISTRY (STN)  
BIOSIS (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	MARUYAMA et al, 'Central administration of prolactin-releasing peptide stimulates oxytocin release in rats', Neuroscience Letters, 1999, Vol.276, pp193-196, Full text	1-7,9
PX	WO, 98/58962, A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD.), & JP, 11-71300, A, Claim 9	7
PA	MARUYAMA et al, 'Immunocytochemical localization of prolactin-releasing peptide in the rat brain', Endocrinology, 1999, Vol.140, No.5, pp2326-2333, Full text	1-7,9
A	HINUMA et al, 'A prolactin-releasing peptide in the brain', NATURE, 21 May, 1998, Vol.393, pp272-276, Full text	1-7,9
A	BOERSMA et al, 'Immunocytochemical localization of neuropeptide FF(FMRF amide-like peptide) in the hypothalamo-neurohypophyseal system of wistar and brattleboro rats by light and electron microscopy' THE JOURNAL OF COMPARATIVE	1-7,9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
14 March, 2000 (14.03.00)Date of mailing of the international search report  
28 March, 2000 (28.03.00)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 8,10  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
The subject matter of claims 8 and 10 relates to a method for treatment of the human body by therapy, which does not require an international search report by the International Search Authority in accordance with PCT Article 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv).
2. ☒ Claims Nos.: 1  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
No meaningful International Search can be carried out, since those skilled in the art cannot understand which peptides fall within the category of "ligand peptide to a G protein-coupled receptor protein".
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐  
☐

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
No protest accompanied the payment of additional search fees.

P C T

## 国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)  
[P C T 1 8 条、P C T 規則43、44]

出願人又は代理人 書類記号 2 5 8 4 W O O P	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(P C T / I S A / 2 2 0 ) 及び下記 5 を参照すること。		
国際出願番号 P C T / J P 9 9 / 0 7 1 9 9	国際出願日 (日.月.年) 2 2 . 1 2 . 9 9	優先日 (日.月.年) 2 5 . 1 2 . 9 8	
出願人 (氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社			

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (P C T 1 8 条) の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☒ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☒ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (P C T 規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 \_\_\_\_\_ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 8, 10 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、  
請求の範囲 8, 10 は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 第17条(2)(a)(i) 及びPCT 規則39.1(iV) の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☒ 請求の範囲 1 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、  
「G 蛋白共役型レセプタータンパク質に対するリガンドペプチド」は当業者がどのようなペプチドがそれに含まれるのかを理解することができないため、有意義な国際調査をすることができない。
3. ☐ 請求の範囲                      は、従属請求の範囲であってPCT 規則6.4(a) の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/17

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/00-58

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2000年
日本国登録実用新案公報	1994-2000年
日本国実用新案登録公報	1996-2000年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN)	EMBASE (STN)
MEDLINE (STN)	REGISTRY (STN)
BIOSIS (STN)	

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	MARUYAMA et al, 'Central administration of prolactin-releasing peptide stimulates oxytocin release in rats', Neuroscience Letters, 1999年, 第276巻, pp193-196、全文	1-7, 9
PX	WO, 98/58962, A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD.), &, JP, 11-71300, A, 請求項9	7
PA	MARUYAMA et al, 'Immunocytochemical localization of prolactin-releasing peptide in the rat brain', Endocrinology, 1999年, 第140巻, 第5号, pp2326-2333, 全文	1-7, 9

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14.03.00

国際調査報告の発送日

28.03.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
郵便番号100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

4C

2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3450

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	HINUMA et al, 'A prolactin-releaseing peptide in the brain', NATURE, 1998年5月21日, 第393巻, pp272-276、全文	1-7, 9
A	BOERSMA et al, 'Immunocytochemical localization of neuropeptide FF(FMRF amide-like peptide) in the hypothalamo- neurohypophyseal system of wista r and brattleboro rats by light and electron microscopy' THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY, 1993年, 第336巻, pp555-570、全文	1-7, 9

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/17

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/00-58

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2000
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2000	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2000

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN)	EMBASE (STN)
MEDLINE (STN)	REGISTRY (STN)
BIOSIS (STN)	

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	MARUYAMA et al, 'Central administration of prolactin-releasing peptide stimulates oxytocin release in rats', Neuroscience Letters, 1999, Vol.276, pp193-196, Full text	1-7,9
PX	WO, 98/58962, A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD.), & JP, 11-71300, A, Claim 9	7
PA	MARUYAMA et al, 'Immunocytochemical localization of prolactin-releasing peptide in the rat brain', Endocrinology, 1999, Vol.140, No.5, pp2326-2333, Full text	1-7,9
A	HINUMA et al, 'A prolactin-releasing peptide in the brain', NATURE, 21 May, 1998, Vol.393, pp272-276, Full text	1-7,9
A	BOERSMA et al, 'Immunocytochemical localization of neuropeptide FF(FMRF amide-like peptide) in the hypothalamo-neurohypophyseal system of wistar and brattleboro rats by light and electron microscopy' THE JOURNAL OF COMPARATIVE	1-7,9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
14 March, 2000 (14.03.00)Date of mailing of the international search report  
28 March, 2000 (28.03.00)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 8,10  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
The subject matter of claims 8 and 10 relates to a method for treatment of the human body by therapy, which does not require an international search report by the International Search Authority in accordance with PCT Article 17(2) (a) (i) and Rule 39.1 (iv) .
2. ☒ Claims Nos.: 1  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
No meaningful International Search can be carried out, since those skilled in the art cannot understand which peptides fall within the category of "ligand peptide to a G protein-coupled receptor protein".
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.



From the INTERNATIONAL BUREAU

## PCT

### NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C. 20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing:

06 July 2000 (06.07.00)

International application No.:

PCT/JP99/07199

Applicant's or agent's file reference:

2584WOOP

International filing date:

22 December 1999 (22.12.99)

Priority date:

25 December 1998 (25.12.98)

Applicant:

MATSUMOTO, Hirokazu et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

31 January 2000 (31.01.00)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election



was



was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

## SEQUENCE LISTING

<110> Takeda Chemical Industries, Ltd.

<120> Use of Peptide

<130> 2584W00P

<150> JP 10-369585

<151> 1998-12-25

<160> 45

<210> 1

<211> 98

<212> PRT

<213> Bovine

<400> 1

Met Lys Ala Val Gly Ala Trp Leu Leu Cys Leu Leu Leu Leu Gly Leu

1 5 10 15

Ala Leu Gln Gly Ala Ala Ser Arg Ala His Gln His Ser Met Glu Ile

20 25 30

Arg Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Ala Gly Arg Gly Ile Arg

35 40 45

Pro Val Gly Arg Phe Gly Arg Arg Arg Ala Ala Pro Gly Asp Gly Pro

50 55 60

Arg Pro Gly Pro Arg Arg Val Pro Ala Cys Phe Arg Leu Glu Gly Gly

65 70 75 80

Ala Glu Pro Ser Arg Ala Leu Pro Gly Arg Leu Thr Ala Gln Leu Val

85 90 95

Gln Glu

<210> 2

<211> 294

<212> DNA

<213> Bovine

<400> 2

ATGAAGGCGG TGGGGGCCTG GCTCCTCTGC CTGCTGCTGC TGGGCCTGGC CCTGCAGGGG 60  
GCTGCCAGCA GAGCCCACCA GCACTCCATG GAGATCCGCA CCCCCGACAT CAACCCTGCC 120  
TGGTACGCRG GCCGTGGGAT CCGGCCCCGTG GGCCGCTTCG GCCGGCGAAG AGCTGCCCCY 180  
GGGGACGGAC CCAGGCCTGG CCCCCGGCGT GTGCCGGCCT GCTTCCGCCT GGAAGGCGGY 240  
GCTGAGCCCT CCCGAGCCCT CCCGGGGCGG CTGACGGCCC AGCTGGTCCA GGAA 294

<210> 3

<211> 31

<212> PRT

<213> Bovine

<400> 3

Ser Arg Ala His Gln His Ser Met Glu Ile Arg Thr Pro Asp Ile Asn

1

5

10

15

Pro Ala Trp Tyr Ala Gly Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe

20

25

30

<210> 4

<211> 32

<212> PRT

<213> Bovine

<400> 4

3/17

Ser Arg Ala His Gln His Ser Met Glu Ile Arg Thr Pro Asp Ile Asn

1 5 10 15

Pro Ala Trp Tyr Ala Gly Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe Gly

20 25 30

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Bovine

&lt;400&gt; 5

Ser Arg Ala His Gln His Ser Met Glu Ile Arg Thr Pro Asp Ile Asn

1 5 10 15

Pro Ala Trp Tyr Ala Gly Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe Gly

20 25 30

Arg

33

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Bovine

&lt;400&gt; 6

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Ala Gly Arg Gly Ile Arg Pro

1 5 10 15

Val Gly Arg Phe

20

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Bovine

&lt;400&gt; 7

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Ala Gly Arg Gly Ile Arg Pro

1

5

10

15

Val Gly Arg Phe Gly

20

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Bovine

&lt;400&gt; 8

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Ala Gly Arg Gly Ile Arg Pro

1

5

10

15

Val Gly Arg Phe Gly Arg

20

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 93

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Bovine

&lt;400&gt; 9

AGCAGAGCCC ACCAGCACTC CATGGAGATC CGCACCCCCG ACATCAACCC TGCCTGGTAC 60

GCRGGCCGTG GGATCCGGCC CGTGGGCCGC TTC

93

&lt;210&gt; 10

<211> 96

<212> DNA

<213> Bovine

<400> 10

AGCAGAGCCC ACCAGCACTC CATGGAGATC CGCACCCCGG ACATCAACCC TGCCTGGTAC 60  
GCRGGCCGTG GGATCCGGCC CGTGGGCCGC TTCGGC 96

<210> 11

<211> 99

<212> DNA

<213> Bovine

<400> 11

AGCAGAGCCC ACCAGCACTC CATGGAGATC CGCACCCCGG ACATCAACCC TGCCTGGTAC 60  
GCRGGCCGTG GGATCCGGCC CGTGGGCCGC TTCGGCCGG 99

<210> 12

<211> 60

<212> DNA

<213> Bovine

<400> 12

ACCCCGACA TCAACCCTGC CTGGTACGCR GGCCGTGGGA TCCGGCCCGT GGGCCGCTTC 60

<210> 13

<211> 63

<212> DNA

<213> Bovine

<400> 13

ACCCCGACA TCAACCCTGC CTGGTACGCR GGCCGTGGGA TCCGGCCCGT GGGCCGCTTC 60

GGC

63

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 66

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Bovine

&lt;400&gt; 14

ACCCCCGACA TCAACCCTGC CTGGTACGCR GGCCGTGGGA TCCGGCCCGT GGGCCGCTTC 60

GGCCGG

66

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 98

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Bovine

&lt;400&gt; 15

Met Lys Ala Val Gly Ala Trp Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu

1

5

10

15

Ala Leu Gln Gly Ala Ala Ser Arg Ala His Gln His Ser Met Glu Ile

20

25

30

Arg Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Ala Gly Arg Gly Ile Arg

35

40

45

Pro Val Gly Arg Phe Gly Arg Arg Arg Ala Ala Leu Gly Asp Gly Pro

50

55

60

Arg Pro Gly Pro Arg Arg Val Pro Ala Cys Phe Arg Leu Glu Gly Gly

65

70

75

80

Ala Glu Pro Ser Arg Ala Leu Pro Gly Arg Leu Thr Ala Gln Leu Val

85

90

95

Gln Glu

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 83

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 16

Met Ala Leu Lys Thr Trp Leu Leu Cys Leu Leu Leu Ser Leu Val

1

5

10

15

Leu Pro Gly Ala Ser Ser Arg Ala His Gln His Ser Met Glu Thr Arg

20

25

30

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Thr Gly Arg Gly Ile Arg Pro

35

40

45

Val Gly Arg Phe Gly Arg Arg Arg Ala Thr Pro Arg Asp Val Thr Gly

50

55

60

Leu Gly Gln Leu Ser Cys Leu Pro Leu Asp Gly Arg Thr Lys Phe Ser

65

70

75

80

Gln Arg Gly

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 249

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 17

ATGGCCCTGA AGACGTGGCT TCTGTGCTTG CTGCTGCTAA GCTTGGTCCT CCCAGGGGCT 60

TCCAGCCGAG CCCACCAGCA CTCCATGGAG ACAAGAACCC CTGATATCAA TCCTGCCTGG 120

TACACGGGCC GCGGGATCAG GCCTGTGGGC CGCTTCGGCA GGAGAAGGGC AACCCCGAGG 180



GATGTCACTG GACTTGGCCA ACTCAGCTGC CTCCCACTGG ATGGACGCAC CAAGTTCTCT 240

CAGCGTGGA 249

<210> 18

<211> 31

<212> PRT

<213> Rat

<400> 18

Ser Arg Ala His Gln His Ser Met Glu Thr Arg Thr Pro Asp Ile Asn

1 5 10 15

Pro Ala Trp Tyr Thr Gly Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe

20 25 30

<210> 19

<211> 32

<212> PRT

<213> Rat

<400> 19

Ser Arg Ala His Gln His Ser Met Glu Thr Arg Thr Pro Asp Ile Asn

1 5 10 15

Pro Ala Trp Tyr Thr Gly Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe Gly

20 25 30

<210> 20

<211> 33

<212> PRT

<213> Rat

<400> 20

9/17

Ser Arg Ala His Gln His Ser Met Glu Thr Arg Thr Pro Asp Ile Asn

1 5 10 15

Pro Ala Trp Tyr Thr Gly Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe Gly

20 25 30

Arg

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 21

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Thr Gly Arg Gly Ile Arg Pro

1 5 10 15

Val Gly Arg Phe

20

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 22

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Thr Gly Arg Gly Ile Arg Pro

1 5 10 15

Val Gly Arg Phe Gly

20

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 22

<212> PRT

<213> Rat

<400> 23

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Thr Gly Arg Gly Ile Arg Pro

1

5

10

15

Val Gly Arg Phe Gly Arg

20

<210> 24

<211> 93

<212> DNA

<213> Rat

<400> 24

AGCCGAGCCC ACCAGCACTC CATGGAGACA AGAACCCCTG ATATCAATCC TGCCTGGTAC 60

ACGGGCCGCG GGATCAGGCC TGTGGGCCGC TTC 93

<210> 25

<211> 96

<212> DNA

<213> Rat

<400> 25

AGCCGAGCCC ACCAGCACTC CATGGAGACA AGAACCCCTG ATATCAATCC TGCCTGGTAC 60

ACGGGCCGCG GGATCAGGCC TGTGGGCCGC TTCGGC 96

<210> 26

<211> 99

<212> DNA

<213> Rat

&lt;400&gt; 26

AGCCGAGCCC ACCAGCACTC CATGGAGACA AGAACCCTG ATATCAATCC TGCCTGGTAC 60  
ACGGGCCGCG GGATCAGGCC TGTGGGCCGC TTCGGCAGG 99

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 60

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 27

ACCCCTGATA TCAATCCTGC CTGGTACACG GGCCGCGGGA TCAGGCCTGT GGGCCGCTTC 60

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 63

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 28

ACCCCTGATA TCAATCCTGC CTGGTACACG GGCCGCGGGA TCAGGCCTGT GGGCCGCTTC 60  
GGC 63

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 66

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Rat

&lt;400&gt; 29

ACCCCTGATA TCAATCCTGC CTGGTACACG GGCCGCGGGA TCAGGCCTGT GGGCCGCTTC 60  
GGCAGG 66

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 87

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 30

Met Lys Val Leu Arg Ala Trp Leu Leu Cys Leu Leu Met Leu Gly Leu

1 5 10 15

Ala Leu Arg Gly Ala Ala Ser Arg Thr His Arg His Ser Met Glu Ile

20 25 30

Arg Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Ala Ser Arg Gly Ile Arg

35 40 45

Pro Val Gly Arg Phe Gly Arg Arg Arg Ala Thr Leu Gly Asp Val Pro

50 55 60

Lys Pro Gly Leu Arg Pro Arg Leu Thr Cys Phe Pro Leu Glu Gly Gly

65 70 75 80

Ala Met Ser Ser Gln Asp Gly

85

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 261

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 31

ATGAAGGTGC TGAGGGCCTG GCTCCTGTGC CTGCTGATGC TGGGCCTGGC CCTGCGGGGA 60

GCTGCAAGTC GTACCCATCG GCACTCCATG GAGATCCGCA CCCCTGACAT CAATCCTGCC 120

TGGTACGCCA GTCGCGGGAT CAGGCCTGTG GGCCGCTTCG GTCGGAGGAG GGCAACCCTG 180

GGGGACGTCC CCAAGCCTGG CCTGCGACCC CGGCTGACCT GCTTCCCCCT GGAAGGCGGT 240

GCTATGTCGT CCCAGGATGG C 261

&lt;210&gt; 32

&lt;211&gt; 31

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 32

Ser Arg Thr His Arg His Ser Met Glu Ile Arg Thr Pro Asp Ile Asn

1 5 10 15

Pro Ala Trp Tyr Ala Ser Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe

20 25 30

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 33

Ser Arg Thr His Arg His Ser Met Glu Ile Arg Thr Pro Asp Ile Asn

1 5 10 15

Pro Ala Trp Tyr Ala Ser Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe Gly

20 25 30

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 34

Ser Arg Thr His Arg His Ser Met Glu Ile Arg Thr Pro Asp Ile Asn

1 5 10 15

Pro Ala Trp Tyr Ala Ser Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe Gly

20

25

30

Arg

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 35

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Ala Ser Arg Gly Ile Arg Pro

1

5

10

15

Val Gly Arg Phe

20

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 36

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Ala Ser Arg Gly Ile Arg Pro

1

5

10

15

Val Gly Arg Phe Gly

20

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 37

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Ala Ser Arg Gly Ile Arg Pro

1

5

10

15

Val Gly Arg Phe Gly Arg

20

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 93

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 38

AGTCGTACCC ATCGGCACTC CATGGAGATC CGCACCCCTG ACATCAATCC TGCCTGGTAC 60

GCCAGTCGCG GGATCAGGCC TGTGGGCCGC TTC 93

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 96

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 39

AGTCGTACCC ATCGGCACTC CATGGAGATC CGCACCCCTG ACATCAATCC TGCCTGGTAC 60

GCCAGTCGCG GGATCAGGCC TGTGGGCCGC TTCGGT 96

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 99

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Human

&lt;400&gt; 40

AGTCGTACCC ATCGGCACTC CATGGAGATC CGCACCCCTG ACATCAATCC TGCCTGGTAC 60



GCCAGTCGCG GGATCAGGCC TGTGGGCCGC TTCGGTCGG

99

<210> 41

<211> 60

<212> DNA

<213> Human

<400> 41

ACCCCTGACA TCAATCCTGC CTGGTACGCC AGTCGCGGGA TCAGGCCTGT GGGCCGCTTC 60

<210> 42

<211> 63

<212> DNA

<213> Human

<400> 42

ACCCCTGACA TCAATCCTGC CTGGTACGCC AGTCGCGGGA TCAGGCCTGT GGGCCGCTTC 60

GGT

63

<210> 43

<211> 66

<212> DNA

<213> Human

<400> 43

ACCCCTGACA TCAATCCTGC CTGGTACGCC AGTCGCGGGA TCAGGCCTGT GGGCCGCTTC 60

GGTCGG

66

<210> 44

<211> 31

<212> PRT

<213> Unknown

&lt;220&gt;

&lt;221&gt;

<223> Xaa on the 3rd position means Thr or Ala, Xaa on the 5th position means Arg or Gln, Xaa on the 10th position means Ile or Thr, Xaa on the 21st position means Thr or Ala, Xaa on the 22nd position means Gly or Ser.

&lt;400&gt; 44

Ser Arg Xaa His Xaa His Ser Met Glu Xaa Arg Thr Pro Asp Ile Asn

1 5 10 15

Pro Ala Trp Tyr Xaa Xaa Arg Gly Ile Arg Pro Val Gly Arg Phe

20 25 30

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Unknown

&lt;220&gt;

&lt;221&gt;

<223> Xaa on the 10th position means Thr or Ala, Xaa on the 11th position means Gly or Ser.

&lt;400&gt; 45

Thr Pro Asp Ile Asn Pro Ala Trp Tyr Xaa Xaa Arg Gly Ile Arg Pro

1 5 10 15

Val Gly Arg Phe

20

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C. 20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing:

06 July 2000 (06.07.00)

International application No.:

PCT/JP99/07199

Applicant's or agent's file reference:

2584WO0P

International filing date:

22 December 1999 (22.12.99)

Priority date:

25 December 1998 (25.12.98)

Applicant:

MATSUMOTO, Hirokazu et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

31 January 2000 (31.01.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

12T  
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 2584WO0P	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/07199	International filing date ( <i>day/month/year</i> ) 22 December 1999 (22.12.99)	Priority date ( <i>day/month/year</i> ) 25 December 1998 (25.12.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 38/17		
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input checked="" type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 31 January 2000 (31.01.00)	Date of completion of this report 12 September 2000 (12.09.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

## I. Basis of the report

### 1. With regard to the **elements** of the international application:\*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

### 2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item. These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

### 3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

### 4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

### 5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 1,8,10

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 8,10 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

The subject matters of claims 8 and 10 relate to a method of treating the human body by therapy, which does not require an international preliminary examination by the International Preliminary Examining Authority in accordance with PCT Article 34(4)(a)(i) and Rule 67.1(iv).

- ☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 1 are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

No opinion can be given with respect to "a ligand peptide for a G protein-coupled receptor protein", since the specific identity of the peptide is not clear to a person skilled in the art.

- ☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.
- ☒ no international search report has been established for said claims Nos. 1,8,10

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	2-7,9	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	2-7,9	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-7,9	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

Document 1: Hinuma et al., "A prolactin-releasing peptide in the brain", Nature, 21 May, 1998, Vol. 393, pages 272-276, full text

Document 2: Boersma et al., "Immunocytochemical localization of neuropeptide FF (FMRF amide-like peptide) in the hypothalamo-neurohypophyseal system of Wistar and Brattleboro rats by light and electron microscopy", Journal of Comparative Neurology, 1993, Vol. 336, pages 555-570, full text

#### Explanation

#### Claims 2-7 and 9

Document 1 states that PrRP is localized in the hypothalamus and promotes the secretion of prolactin, but it does not describe the secretory control of oxytocin. Furthermore, the relation between the secretory promotion of prolactin and the secretory control of oxytocin is neither described in any of the documents cited in the ISR nor obvious to a person skilled in the art.

Document 2 states that neuropeptide FF, an FMRF amide-like peptide such as PrRP, is localized in the nerve lobe of the hypothalamus and may participate in the secretion of oxytocin and vasopressin, but does not state that PrRP controls the secretion of oxytocin. Furthermore, it is neither described in any of the documents cited in the ISR nor obvious to a person skilled in the art that all FMRF amide-like peptides participate in the secretory control of oxytocin.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

## VI. Certain documents cited

### 1. Certain published documents (Rule 70.10)

Application No. Patent No.	Publication date (day/month/year)	Filing date (day/month/year)	Priority date (valid claim) (day/month/year)
WO98/58962,A1	30 December 1998 (30.12.1998)	22 June 19098 (22.06.19098)	23 June 1997 (23.06.1997)
[EX]			

### 2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

Kind of non-written disclosure	Date of non-written disclosure (day/month/year)	Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year)



## PCT COOPERATION TREATY

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE  
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL  
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TAKAHASHI, Shuichi  
Osaka Plant of Takeda Chemical  
Industries, Ltd.  
17-85, Jusohonmachi 2-chome  
Yodogawa-ku  
Osaka-shi  
Osaka 532-0024  
JAPON


Date of mailing (day/month/year) 06 July 2000 (06.07.00)		
Applicant's or agent's file reference 2584WO0P		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/JP99/07199	International filing date (day/month/year) 22 December 1999 (22.12.99)	
		Priority date (day/month/year) 25 December 1998 (25.12.98)
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:  
AU,CN,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:  
AE,AL,AM,AP,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,CA,CR,CU,CZ,DM,EA,EE,EP,GD,GE,HR,HU,ID,IL,IN,IS,KG,  
KZ,LC,LK,LR,LT,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MX,NO,NZ,OA,PL,RO,RU,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,  
UA,UZ,VN,YU,ZA  
The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on  
06 July 2000 (06.07.00) under No. WO 00/38704

**REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)**

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

**REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))**

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

E P



P C T

## 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 2584WOOP	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。		
国際出願番号 PCT/JP99/07199	国際出願日 (日.月.年) 22.12.99	優先日 (日.月.年) 25.12.98	
出願人(氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社			

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☒ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☒ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 \_\_\_\_\_ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 8, 10 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、  
請求の範囲8, 10は治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iV)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☒ 請求の範囲 1 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、  
「G蛋白共役型レセプタータンパク質に対するリガンドペプチド」は当業者がどのようなペプチドがそれに含まれるのかを理解することができないため、有意義な国際調査をすることができない。
3. ☐ 請求の範囲                      は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/17

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/00-58

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2000年
日本国登録実用新案公報	1994-2000年
日本国実用新案登録公報	1996-2000年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN)	EMBASE (STN)
MEDLINE (STN)	REGISTRY (STN)
BIOSIS (STN)	

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	MARUYAMA et al, 'Central administration of prolactin-releasing peptide stimulates oxytocin release in rats', Neuroscience Letters, 1999年, 第276巻, pp193-196, 全文	1-7, 9
PX	WO, 98/58962, A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD.), &, JP, 11-71300, A, 請求項9	7
PA	MARUYAMA et al, 'Immunocytochemical localization of prolactin-releasing peptide in the rat brain', Endocrinology, 1999年, 第140巻, 第5号, pp2326-2333, 全文	1-7, 9

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14.03.00

国際調査報告の発送日

28.03.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

4C

2938

電話番号 03-3581-1101 内線 3450

## C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	HINUMA et al, 'A prolactin-releasing peptide in the brain', NATURE, 1998年5月21日, 第393巻, pp272-276、全文	1-7, 9
A	BOERSMA et al, 'Immunocytochemical localization of neuropeptide FF(FMRF amide-like peptide) in the hypothalamo- neurohypophyseal system of wistar and brattleboro rats by light and electron microscopy' THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY, 1993年, 第336巻, pp555-570、全文	1-7, 9

特許協力条約に基づく国際出願

願 書

出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。

国際出願番号	受理官庁記入欄 PCT 22.12.99 受領印
国際出願日	
(受付印)	

出願人又は代理人の書類記号 (希望する場合、最大12字)	2584WO0P
---------------------------------	----------

第 I 欄 発明の名称
ペプチドの用途

第 II 欄 出願人
------------

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)		<input type="checkbox"/> この欄に記載した者は、 発明者でもある。
武田薬品工業株式会社 TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. 〒541-0045 日本国大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, OSAKA 541-0045 JAPAN		電話番号:
		ファクシミリ番号:
		加入電話番号:

国籍 (国名): 日本国 Japan	住所 (国名): 日本国 Japan
--------------------	--------------------

この欄に記載した者は、次の  
指定国についての出願人である: ☐ すべての指定国 ☒ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

第 III 欄 その他の出願人又は発明者
----------------------

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)		この欄に記載した者は、 次に該当する:
松本 寛和 MATSUMOTO Hirokazu 〒305-0821 日本国茨城県つくば市春日1丁目7番地9 武田春日ハイツ1204号 Takedakasuga Haitsu 1204, 7-9, Kasuga 1-chome, Tsukuba-shi, IBARAKI 305-0821 JAPAN		<input type="checkbox"/> 出願人のみである。
		<input checked="" type="checkbox"/> 出願人及び発明者である。
		<input type="checkbox"/> 発明者のみである。 (ここにレ印を付したときは、 以下に記入しないこと)

国籍 (国名): 日本国 Japan	住所 (国名): 日本国 Japan
--------------------	--------------------

この欄に記載した者は、次の  
指定国についての出願人である: ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

<input checked="" type="checkbox"/> その他の出願人又は発明者が続葉に記載されている。
--

第 IV 欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名
---------------------------

次に記載された者は、国際機関において出願人のために行動する: ☒ 代理人 ☐ 共通の代表者

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)		電話番号:
11404 弁理士 高橋秀一 TAKAHASHI Shuichi 〒532-0024 日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社大阪工場内 c/o Osaka Plant of TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. 17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, OSAKA 532-0024 JAPAN		03-3278-2235
		ファクシミリ番号:
		03-3278-2222
		加入電話番号:

☐ 通知のためのあて名: 代理人又は共通の代表者が選任されておらず、上記枠内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す

第Ⅲ欄の続き その他の出願人又は発明者

この続葉を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

北田 千恵子 KITADA Chieko  
〒590-0073 日本国大阪府堺市南向陽町1丁2番8号  
2-8, Minamikoyochō 1-cho, Sakai-shi, OSAKA 590-0073 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。  
☒ 出願人及び発明者である。  
☐ 発明者のみである。  
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名): 日本国 Japan

住所 (国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

日沼 州司 HINUMA Shuji  
〒305-0821 日本国茨城県つくば市春日1丁目7番地9 武田春日  
ハイツ1402号  
Takedakasuga Haitzu 1402, 7-9, Kasuga 1-chome, Tsukuba-shi,  
IBARAKI 305-0821 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。  
☒ 出願人及び発明者である。  
☐ 発明者のみである。  
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名): 日本国 Japan

住所 (国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。  
☐ 出願人及び発明者である。  
☐ 発明者のみである。  
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名):

住所 (国名):

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。  
☐ 出願人及び発明者である。  
☐ 発明者のみである。  
(ここにレ印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名):

住所 (国名):

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追記欄に記載した指定国

☐ その他の出願人又は発明者が他の続葉に記載されている。

# 第Ⅴ欄 国の指定

規則 4. 9(a)の規定に基づき次の指定を行う（該当する□にレ印を付すこと；少なくとも1つの□にレ印を付すこと）。

## 広域特許

☒ AP **ARIPO特許**：GH ガーナ Ghana, GM ガンビア Gambia, KE ケニア Kenya, LS レソト Lesotho, MW マラウイ Malawi, SD スーダン Sudan, SZ スワジランド Swaziland, UG ウガンダ Uganda, ZW ジンバブエ Zimbabwe, 及びハラレブプロトコルと特許協力条約の締約国である他の国

☒ EA **ユーラシア特許**：AM アルメニア Armenia, AZ アゼルバイジャン Azerbaijan, BY ベラルーシ Belarus, KG キルギス Kyrgyzstan, KZ カザフスタン Kazakhstan, MD モルドヴァ Republic of Moldova, RU ロシア Russian Federation, TJ タジキスタン Tajikistan, TM トルクメニスタン Turkmenistan, 及びユーラシア特許条約と特許協力条約の締約国である他の国

☒ EP **ヨーロッパ特許**：AT オーストリア Austria, BE ベルギー Belgium, CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein, CY キプロス Cyprus, DE ドイツ Germany, DK デンマーク Denmark, ES スペイン Spain, FI フィンランド Finland, FR フランス France, GB 英国 United Kingdom, GR ギリシャ Greece, IE アイルランド Ireland, IT イタリア Italy, LU ルクセンブルグ Luxembourg, MC モナコ Monaco, NL オランダ Netherlands, PT ポルトガル Portugal, SE スウェーデン Sweden, 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国

☒ OA **OAPI特許**：BF ブルキナ・ファソ Burkina Faso, BJ ベナン Benin, CF 中央アフリカ Central African Republic, CG コンゴ Congo, CI コートジボアール Côte d'Ivoire, CM カメルーン Cameroon, GA ガボン Gabon, GN ギニア Guinea, GW ギニア・ビサウ Guinea-Bissau, ML マリ Mali, MR モーリタニア Mauritania, NE ニジェール Niger, SN セネガル Senegal, TD チャド Chad, TG トーゴ Togo, 及びアフリカ知的所有権機構のメンバー国と特許協力条約の締約国である他の国（他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線の上に記載する）

## 国内特許（他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線の上に記載する）

<input checked="" type="checkbox"/> AE アラブ首長国連邦 United Arab Emirates	<input checked="" type="checkbox"/> MD モルドヴァ Republic of Moldova
<input checked="" type="checkbox"/> AL アルバニア Albania	<input checked="" type="checkbox"/> MG マダガスカル Madagascar
<input checked="" type="checkbox"/> AM アルメニア Armenia	<input checked="" type="checkbox"/> MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国 The former Yugoslav Republic of Macedonia
<input checked="" type="checkbox"/> AT オーストリア Austria	<input checked="" type="checkbox"/> MN モンゴル Mongolia
<input checked="" type="checkbox"/> AU オーストラリア Australia	<input checked="" type="checkbox"/> MW マラウイ Malawi
<input checked="" type="checkbox"/> AZ アゼルバイジャン Azerbaijan	<input checked="" type="checkbox"/> MX メキシコ Mexico
<input checked="" type="checkbox"/> BA ボスニア・ヘルツェゴヴィナ Bosnia and Herzegovina	<input checked="" type="checkbox"/> NO ノールウェー Norway
<input checked="" type="checkbox"/> BB バルバドス Barbados	<input checked="" type="checkbox"/> NZ ニュー・ジーランド New Zealand
<input checked="" type="checkbox"/> BG ブルガリア Bulgaria	<input checked="" type="checkbox"/> PL ポーランド Poland
<input checked="" type="checkbox"/> BR ブラジル Brazil	<input checked="" type="checkbox"/> PT ポルトガル Portugal
<input checked="" type="checkbox"/> BY ベラルーシ Belarus	<input checked="" type="checkbox"/> RO ルーマニア Romania
<input checked="" type="checkbox"/> CA カナダ Canada	<input checked="" type="checkbox"/> RU ロシア Russian Federation
<input checked="" type="checkbox"/> CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein	<input checked="" type="checkbox"/> SD スーダン Sudan
<input checked="" type="checkbox"/> CN 中国 China	<input checked="" type="checkbox"/> SE スウェーデン Sweden
<input checked="" type="checkbox"/> CU キューバ Cuba	<input checked="" type="checkbox"/> SG シンガポール Singapore
<input checked="" type="checkbox"/> CZ チェッコ Czech Republic	<input checked="" type="checkbox"/> SI スロヴェニア Slovenia
<input checked="" type="checkbox"/> DE ドイツ Germany	<input checked="" type="checkbox"/> SK スロヴァキア Slovakia
<input checked="" type="checkbox"/> DK デンマーク Denmark	<input checked="" type="checkbox"/> SL シエラ・レオネ Sierra Leone
<input checked="" type="checkbox"/> EE エストニア Estonia	<input checked="" type="checkbox"/> TJ タジキスタン Tajikistan
<input checked="" type="checkbox"/> ES スペイン Spain	<input checked="" type="checkbox"/> TM トルクメニスタン Turkmenistan
<input checked="" type="checkbox"/> FI フィンランド Finland	<input checked="" type="checkbox"/> TR トルコ Turkey
<input checked="" type="checkbox"/> GB 英国 United Kingdom	<input checked="" type="checkbox"/> TT トリニダッド・トバゴ Trinidad and Tobago
<input checked="" type="checkbox"/> GD グレナダ Grenada	<input checked="" type="checkbox"/> UA ウクライナ Ukraine
<input checked="" type="checkbox"/> GE グルジア Georgia	<input checked="" type="checkbox"/> UG ウガンダ Uganda
<input checked="" type="checkbox"/> GH ガーナ Ghana	<input checked="" type="checkbox"/> US 米国 United States of America
<input checked="" type="checkbox"/> GM ガンビア Gambia	<input checked="" type="checkbox"/> UZ ウズベキスタン Uzbekistan
<input checked="" type="checkbox"/> HR クロアチア Croatia	<input checked="" type="checkbox"/> VN ヴィエトナム Viet Nam
<input checked="" type="checkbox"/> HU ハンガリー Hungary	<input checked="" type="checkbox"/> YU ユーゴスラヴィア Yugoslavia
<input checked="" type="checkbox"/> ID インドネシア Indonesia	<input checked="" type="checkbox"/> ZA 南アフリカ共和国 South Africa
<input checked="" type="checkbox"/> IL イスラエル Israel	<input checked="" type="checkbox"/> ZW ジンバブエ Zimbabwe
<input checked="" type="checkbox"/> IN インド India	
<input checked="" type="checkbox"/> IS アイスランド Iceland	
<input checked="" type="checkbox"/> JP 日本 Japan	
<input checked="" type="checkbox"/> KE ケニア Kenya	
<input checked="" type="checkbox"/> KG キルギス Kyrgyzstan	
<input checked="" type="checkbox"/> KP 北朝鮮 Democratic People's Republic of Korea	
<input checked="" type="checkbox"/> KR 韓国 Republic of Korea	
<input checked="" type="checkbox"/> KZ カザフスタン Kazakhstan	
<input checked="" type="checkbox"/> LC セント・ルシア Saint Lucia	
<input checked="" type="checkbox"/> LK スリ・ランカ Sri Lanka	
<input checked="" type="checkbox"/> LR リベリア Liberia	
<input checked="" type="checkbox"/> LS レソト Lesotho	
<input checked="" type="checkbox"/> LT リトアニア Lithuania	
<input checked="" type="checkbox"/> LU ルクセンブルグ Luxembourg	
<input checked="" type="checkbox"/> LV ラトヴィア Latvia	

以下の□は、この様式の施行後に特許協力条約の締約国となった国を指定（国内特許のために）するためのものである

<input checked="" type="checkbox"/> CR コスタリカ Costa Rica
<input checked="" type="checkbox"/> DM ドミニカ Dominica
<input checked="" type="checkbox"/> TZ タンザニア Tanzania
<input checked="" type="checkbox"/> MA モロッコ Morocco
<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>

確認の指定の宣言：出願人は、上記の指定に加えて、規則4. 9(b)の規定に基づき、特許協力条約の下で認められる他の全ての国の指定を行う。ただし、この宣言から除く旨の表示を追記欄にした国は、指定から除かれる。出願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から15月が経過する前にその確認がなされない指定は、この期間の経過時に、出願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。（指定の確認は、指定を特定する通知の提出と指定手数料及び確認手数料の納付からなる。この確認は、優先日から15月以内に受理官庁へ提出しなければならない。）



# 追記欄

この追記欄を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

## 1. 全ての情報を該当する欄の中に記載できないとき。

この場合は、「第何欄.....の続き」(欄番号を表示する) と表示し、記載できない欄の指示と同じ方法で情報を記載する。; 特に、

### (i) 出願人又は発明者として3人以上いる場合で、「続葉」を使用できないとき。

この場合は、「第Ⅲ欄の続き」と表示し、第Ⅲ欄で求められている同じ情報を、それぞれの者について記載する。

### (ii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、「追記欄に記載した指定国」にレ印を付しいるとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」と記載し、該当する出願人の氏名(名称)を表示し、それぞれの氏名(名称)の次にその者が出願人となる指定国(広域特許の場合は、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許)を記載する。

### (iii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、発明者又は発明者及び出願人である者が、すべての指定国のための又は米国のための発明者ではないとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」と記載し、該当する発明者の氏名を表示し、その者が発明者である指定国(広域特許の場合は、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許)を記載する。

### (iv) 第Ⅳ欄に示す代理人以外に代理人がいるとき。

この場合は、「第Ⅳ欄の続き」と表示し、第Ⅳ欄で求められている同じ情報を、それぞれの代理人について記載する。

### (v) 第Ⅴ欄において指定国又はOAPI特許が、「追加特許」又は「追加証」を伴うとき、又は、米国が「継続」又は「一部継続」を伴うとき。

この場合は、「第Ⅴ欄の続き」及び該当するそれぞれの指定国又はOAPI特許を表示し、それぞれの指定国又はOAPI特許の後に、原特許又は原出願の番号及び特許付与日又は原出願日を記載する。

### (vi) 第Ⅵ欄において優先権を主張する先の出願が4件以上あるとき。

この場合は、「第Ⅵ欄の続き」と表示し、第Ⅵ欄で求められている同じ情報を、それぞれの先の出願について記載する。

### (vii) 第Ⅵ欄において先の出願がARIPOの特許出願であるとき。

この場合は、「第Ⅵ欄の続き」と表示し、その先の出願に対応する項目の番号を特定して、更に、その先の出願を行った工業所有権の保護のためのパリ条約同盟国の少なくとも1ヶ国を表示する。

## 2. 出願人が、第Ⅴ欄における確認の指定の宣言に関し、その宣言からいずれかの国を除くことを希望するとき。

この場合は、「確認の指定の宣言から、以下の指定国を除く」と記載し、除かれる国名又は2文字の国コードを表示する。

## 3. 出願人が、指定官庁について不利にならない開示又は新規性の喪失についての例外に関する国内法の適用を請求するとき。

この場合は、「不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する陳述」と表示し、以下にその内容を記述する。

### 「第Ⅳ欄の続き」

11045 弁理士 内山 務 UCHIYAMA Tsutomu

〒532-0024 日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号  
武田薬品工業株式会社大阪工場内

c/o Osaka Plant of TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.  
17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi,  
OSAKA 532-0024 JAPAN

第VI欄 優先権主張

他の優先権の主張(先の出願)が追記欄に記載されている

先の出願日 (日. 月. 年)	先の出願番号	先の出願		
		国内出願 : 国 名	広域出願 : *広域官庁名	国際出願 : 受理官庁名
(1) 25. 12. 98	平成10年特許願 第369585号	日本国 Japan		
(2)				
(3)				

☒ 上記 ( ) の番号の先の出願(ただし、本国際出願が提出される受理官庁に対して提出されたものに限り)のうち、次の ( ) の番号のものについては、出願書類の認証謄本を作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁(日本特許庁の長官)に対して請求している。

(1)

\* 先の出願が、ARIPOの特許出願である場合には、その先の出願を行った工業所有権の保護のためのパリ条約同盟国の少なくとも1ヶ国を追記欄に表示しなければならない(規則4.10(b)(ii))。追記欄を参照。

第VII欄 国際調査機関

国際調査機関 (ISA) の選択

ISA/JP

先の調査結果の利用請求; 当該調査の照会  
(先の調査が、国際調査機関によって既に実施又は請求されている場合)

出願日 (日. 月. 年)

出願番号

国名 (又は広域官庁)

第VIII欄 照合欄 ; 出願の言語

この国際出願の用紙の枚数は次のとおりである。

願書 . . . . . 5 枚  
明細書(配列表を除く) . . . . . 43 枚  
請求の範囲 . . . . . 1 枚  
要約書 . . . . . 1 枚  
図面 . . . . . 2 枚  
明細書の配列表 . . . . . 17 枚  
合計 . . . . . 69 枚

この国際出願には、以下にチェックした書類が添付されている。

- ☒ 手数料計算用紙
- ☐ 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面
- ☐ 国際事務局の口座への振込みを証明する書面
- ☒ 別個の記名押印された委任状
- ☒ 包括委任状の写し
- ☐ 記名押印(署名)の説明書
- ☐ 優先権書類 (上記第VI欄の ( ) の番号を記載する):
- ☐ 国際出願の翻訳文(翻訳に使用した言語名を記載する):
- ☐ 寄託した微生物又は他の生物材料に関する書面
- ☐ スクレオチド及び/又はアミノ酸配列表(フレキシブルディスク)
- ☐ その他 (書類名を詳細に記載する)

要約書とともに提示する 図面:

本国際出願の使用言語名:

日本語

IX欄 提出者の記名押印

各人の氏名 (名称) を記載し、その次に押印する。

高橋 秀一



内山 務



1. 国際出願として提出された書類の実際の受理の日

受理官庁記入欄

3. 国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であって  
その後期間内に提出されたものの実際の受理の日 (訂正日)

4. 特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日

5. 出願人により特定された  
国際調査機関

ISA/JP

6. ☐ 調査手数料未払いにつき、国際調査機関に  
調査用写しを送付していない

2. 図面

☐ 受理された

☐ 不足図面がある

国際事務局記入欄

記録原本の受理の日

P C T

手 数 料 計 算 用 紙  
願 書 附 属 書

受理官庁記入欄

国際出願番号

出願人又は代理人の書類記号

2584WO0P

受理官庁の日付印

出願人

武田薬品工業株式会社

## 所定の手数料の計算

1. 及び2. 特許協力条約に基づく国際出願等に関する法律（国内法）  
第18条第1項第1号の規定による手数料（注1）  
（送付手数料 [T] 及び調査手数料 [S] の合計）

95,000 円 T+S

## 国際手数料（注2）

基本手数料

国際出願に含まれる用紙の枚数 69 枚

最初の30枚まで .....

54,800 円 b1

39 × 1,300 =

50,700 円 b2

30枚を越える用紙の枚数 用紙1枚の手数料

b1及びb2に記入した金額を加算し、合計額をBに記入

105,500 円 B

指定手数料

国際出願に含まれる指定数（注3） 63

10 × 12,600 =

126,000 円 D

支払うべき指定手数料  
の数（上限は10）  
（注4）

1指定当たり  
の手数料  
（円）

B及びDに記入した金額を加算し、合計額をIに記入 .....

231,500 円 I

## 4. 納付すべき手数料の合計

T+S及びIに記入した金額を加算し、合計額を合計に記入

326,500 円

合 計

（注1）送付手数料及び調査手数料については、合計金額を特許印紙をもって納付しなければならない。

（注2）国際手数料については、受理官庁である日本国特許庁の長官が告示する国際事務局の口座への振込を証明する書面を提出することにより納付しなければならない。

（注3）願書第V欄でレ印を付した □ の数。

（注4）指定数を記入する。ただし、10指定以上は一律10とする。

## 代理人選任証

29. 09. 1999

弁理士 高橋 秀一 殿

あて名 日本国大阪府大阪市中央区道修町四丁目 1 番 1 号  
名 称 武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社  
代表者 武 田 國 男



すべての国際出願に関する手続について、貴殿を代理人に選任したことに  
相違ありません。

## 包括委任状

12. 11. 97

私儀 弁理士 内山 務 を代理人と定めて、 特許協力条約に基づく  
すべての国際出願に関する一切の件を委任します。

あて名 日本国大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

名 称 武 田 薬 品 工 業 株 式 会 社

代表者 武 田 國 男



## 委任状

1999年11月25日

私議 弁理士 高橋秀一、同内山務を代理人と定めて、下記の権限を委任します。

1. 特許協力条約に基づく国際出願  
「ペプチドの用途」(2584WO0P)  
に関する一切の件
2. 上記出願及び指定国を取下げる件
3. 上記出願についての国際予備審査の請求に関する一切の件並びに請求及び  
選択国の選択を取下げる件

あて名 茨城県つくば市春日1丁目7番地9 武田春日ハイツ1204号

氏名 松本 寛和



あて名 大阪府堺市南向陽町1丁2番8号

氏名 北田 千恵子



あて名 茨城県つくば市春日1丁目7番地9 武田春日ハイツ1402号

氏名 日沼 州司





# 優先権証明願 (P C T)

特許庁長官殿

## 1. 事件の表示

平成10年特許願第369585号

## 2. 請求人

識別番号 000002934

住 所 大阪市中央区道修町四丁目1番1号

ふりがな たけだやくひんこうぎょうかぶしがいいしゃ  
氏 名 武田薬品工業株式会社

代表者 たけだ くにお  
武田 國男



電話番号 03-3278-2235 (担当者 矢口)

3. 出願国名 P C T



(1,500円)

PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF  
RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TAKAHASHI, Shuichi  
Osaka Plant of Takeda Chemical  
Industries, Ltd.  
17-85, Jusohonmachi 2-chome  
Yodogawa-ku  
Osaka-shi  
Osaka 532-0024  
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 25 January 2000 (25.01.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 2584WOOP	International application No. PCT/JP99/07199

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. (for all designated States except US)  
MATSUMOTO, Hirokazu et al (for US)

International filing date : 22 December 1999 (22.12.99)  
Priority date(s) claimed : 25 December 1998 (25.12.98)  
Date of receipt of the record copy  
by the International Bureau : 14 January 2000 (14.01.00)  
List of designated Offices :

AP : GH,GM,KE,LS,MW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW  
EA : AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM  
EP : AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE  
OA : BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG  
National : AE,AL,AM,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,CA,CN,CR,CU,CZ,DM,EE,GD,GE,HR,HU,ID,IL,IN,  
IS,KG,KR,KZ,LC,LK,LR,LT,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MX,NO,NZ,PL,RO,RU,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,  
TT,TZ,UA,US,UZ,VN,YU,ZA

ATTENTION

The applicant should carefully check the data appearing in this Notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau.

In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:

- ☒ time limits for entry into the national phase  
☒ confirmation of precautionary designations  
☒ requirements regarding priority documents

A copy of this Notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer: Susumu Kubo Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---



## INFORMATION ON TIME LIMITS FOR ENTERING THE NATIONAL PHASE

The applicant is reminded that the "national phase" must be entered before each of the designated Offices indicated in the Notification of Receipt of Record Copy (Form PCT/IB/301) by paying national fees and furnishing translations, as prescribed by the applicable national laws.

The time limit for performing these procedural acts is **20 MONTHS** from the priority date or, for those designated States which the applicant elects in a demand for international preliminary examination or in a later election, **30 MONTHS** from the priority date, provided that the election is made before the expiration of 19 months from the priority date. Some designated (or elected) Offices have fixed time limits which expire even later than 20 or 30 months from the priority date. In other Offices an extension of time or grace period, in some cases upon payment of an additional fee, is available.

In addition to these procedural acts, the applicant may also have to comply with other special requirements applicable in certain Offices. It is the applicant's responsibility to ensure that the necessary steps to enter the national phase are taken in a timely fashion. Most designated Offices do not issue reminders to applicants in connection with the entry into the national phase.

For detailed information about the procedural acts to be performed to enter the national phase before each designated Office, the applicable time limits and possible extensions of time or grace periods, and any other requirements, see the relevant Chapters of Volume II of the PCT Applicant's Guide. Information about the requirements for filing a demand for international preliminary examination is set out in Chapter IX of Volume I of the PCT Applicant's Guide.

GR and ES became bound by PCT Chapter II on 7 September 1996 and 6 September 1997, respectively, and may, therefore, be elected in a demand or a later election filed on or after 7 September 1996 and 6 September 1997, respectively, regardless of the filing date of the international application. (See second paragraph above.)

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

## CONFIRMATION OF PRECAUTIONARY DESIGNATIONS

This notification lists only specific designations made under Rule 4.9(a) in the request. It is important to check that these designations are correct. Errors in designations can be corrected where precautionary designations have been made under Rule 4.9(b). The applicant is hereby reminded that any precautionary designations may be confirmed according to Rule 4.9(c) before the expiration of 15 months from the priority date. If it is not confirmed, it will automatically be regarded as withdrawn by the applicant. There will be no reminder and no invitation. Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying the designated State concerned (with an indication of the kind of protection or treatment desired) and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.

## REQUIREMENTS REGARDING PRIORITY DOCUMENTS

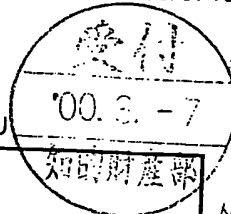
For applicants who have not yet complied with the requirements regarding priority documents, the following is recalled.

Where the priority of an earlier national, regional or international application is claimed, the applicant must submit a copy of the said earlier application, certified by the authority with which it was filed ("the priority document") to the receiving Office (which will transmit it to the International Bureau) or directly to the International Bureau, before the expiration of 16 months from the priority date, provided that any such priority document may still be submitted to the International Bureau before that date of international publication of the international application, in which case that document will be considered to have been received by the International Bureau on the last day of the 16-month time limit (Rule 17.1(a)).

Where the priority document is issued by the receiving Office, the applicant may, instead of submitting the priority document, request the receiving Office to prepare and transmit the priority document to the International Bureau. Such request must be made before the expiration of the 16-month time limit and may be subjected by the receiving Office to the payment of a fee (Rule 17.1(b)).

If the priority document concerned is not submitted to the International Bureau or if the request to the receiving Office to prepare and transmit the priority document has not been made (and the corresponding fee, if any, paid) within the applicable time limit indicated under the preceding paragraphs, any designated State may disregard the priority claim, provided that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Where several priorities are claimed, the priority date to be considered for the purposes of computing the 16-month time limit is the filing date of the earliest application whose priority is claimed.



PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION CONCERNING  
SUBMISSION OR TRANSMITTAL  
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

TAKAHASHI, Shuichi  
Osaka Plant of Takeda Chemical  
Industries, Ltd.  
17-85, Jusohonmachi 2-chome  
Yodogawa-ku  
Osaka-shi  
Osaka 532-0024  
JAPON

NN

Date of mailing (day/month/year) 24 February 2000 (24.02.00)	<p align="center"><b>IMPORTANT NOTIFICATION</b></p>
Applicant's or agent's file reference 2584WOOP	
International application No. PCT/JP99/07199	
International publication date (day/month/year) Not yet published	
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al	<p>International filing date (day/month/year) 22 December 1999 (22.12.99)</p> <p>Priority date (day/month/year) 25 December 1998 (25.12.98)</p>

- The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
- An asterisk(\*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
25 Dece 1998 (25.12.98)	10/369585	JP	18 Febr 2000 (18.02.00)

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No. (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer</p> <p align="right">Tessadel PAMPLIEGA <i>Tessadel</i></p> <p>Telephone No. (41-22) 338.83.38</p>
---	--

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INFORMATION CONCERNING ELECTED  
OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Rule 61.3)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TAKAHASHI, Shuichi  
Osaka Plant of Takeda Chemical  
Industries, Ltd.  
17-85, Jusohonmachi 2-chome  
Yodogawa-ku  
Osaka-shi  
Osaka 532-0024  
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 06 July 2000 (06.07.00)		
Applicant's or agent's file reference 2584WO0P		
<b>IMPORTANT INFORMATION</b>		
International application No. PCT/JP99/07199	International filing date (day/month/year) 22 December 1999 (22.12.99)	Priority date (day/month/year) 25 December 1998 (25.12.98)
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al		

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

AP : GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW  
EP : AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE  
National : AU, BG, BR, CA, CN, CZ, IL, KR, MN, NO, NZ, PL, RO, RU, SK, US

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM  
OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG  
National : AE, AL, AM, AZ, BA, BB, BY, CR, CU, DM, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IN, IS, KG, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MX, SG, SI, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UZ, VN, YU, ZA

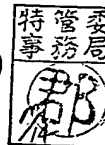
3. The applicant is reminded that he must enter the "national phase" before the expiration of 30 months from the priority date before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing, if prescribed, a translation of the international application (Article 39(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 36(3)(b) and Rule 74.1).

Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

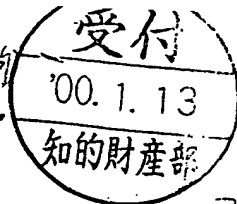
The entry into the European regional phase is postponed until 31 months from the priority date for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer:  J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

# 特許協力条約



233回  
(2001/1/14)  
V-1 省城



3

発信人 日本国特許庁 (受理官庁)

出願人代理人

高橋 秀一

あて名

〒532-0024

大阪府大阪市淀川区十三本町2-17-85  
武田薬品工業株式会社大阪工場内

殿

## 国際出願番号及び 国際出願日の通知書

(法施行規則第22条、第23条)  
〔PCT規則20.5(c)〕

PCT/JP99/07199

RO105

発送日 (日. 月. 年)

11. 01. 00

出願人又は代理人  
の書類記号

2584WOOP

重 要 な 通 知

国際出願番号

PCT/JP99/07199

国際出願日 (日. 月. 年)

22. 12. 99

優先日 (日. 月. 年)

25. 12. 98

出願人 (氏名又は名称)

武田薬品工業株式会社

1. この国際出願は、上記の国際出願番号及び国際出願日が付与されたことを通知する。

記録原本は、11 日 01 月 00 年 に国際事務局に送付した。

### 注 意

- 国際出願番号は、特許協力条約を表示する「PCT」の文字、斜線、受理官庁を表示する2文字コード (日本の場合JP)、西暦年の最後から2桁の数字、斜線、及び5桁の数字からなっています。
- 国際出願日は、「特許協力条約に基づく国際出願に関する法律」第4条第1項の要件を満たした国際出願に付与されます。
- あて名等を変更したときは、速やかにあて名の変更届等を提出して下さい。
- 電子計算機による漢字処理のため、漢字の一部を当用漢字、又は、仮名に置き換えて表現してある場合もありますので御了承下さい。
- この通知に記載された出願人のあて名、氏名 (名称) に誤りがあるときは申出により訂正します。
- 国際事務局は、受理官庁から記録原本を受領した場合には、出願人にその旨を速やかに通知 (様式PCT/IB/301) する。記録原本を優先日から14箇月が満了しても受領していないときは、国際事務局は出願人にその旨を通知する。〔PCT規則22.1(c)〕

名称及びあて名

日本国特許庁 (RO/JP)

郵便番号 100-8915 TEL 03-3592-1308

日本国東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

様式PCT/RO/105 (1998年7月)

権限のある職員

特 許 庁 長 官

REC'D 03 OCT 2000

WIPO

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 2584WOOP	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP99/07199	国際出願日 (日.月.年) 22.12.99	優先日 (日.月.年) 25.12.98
国際特許分類(IPC) Int. Cl <sup>7</sup> A61K38/17		
出願人(氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。  <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で _____ ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。  I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input checked="" type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input checked="" type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 31.01.00	国際予備審査報告を作成した日 12.09.00	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 田村 聖子 印	4C 2938
電話番号 03-3581-1101 内線 3450		

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、  
 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、  
 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、  
 出願時に提出されたもの  
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、  
 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、  
 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、  
 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、  
 出願時に提出されたもの  
 PCT19条の規定に基づき補正されたもの  
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、  
 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、  
 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、  
 出願時に提出されたもの  
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、  
 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、  
 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、  
 出願時に提出されたもの  
 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

## III. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

1. 次に関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 1, 8, 10

理由:

☒ この国際出願又は請求の範囲 8, 10 は、国際予備審査をすることを要しない次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

請求の範囲 8, 10 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 第 34 条 (4) (a) (i) 及び PCT 規則 67.1 (i V) の規定により、この国際予備審査機関が国際予備審査を行うことを要しない対象に係るものである。

☒ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 1 の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

「G 蛋白共役型レセプタータンパク質に対するリガンドペプチド」は、当業者がどのようなペプチドがそれに含まれるのかを理解することができないため、見解を示すことができない。

☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

☒ 請求の範囲 1, 8, 10 について、国際調査報告が作成されていない。

2. ヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書 C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査を行うことができない。

☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性(N)

請求の範囲 2-7, 9 有  
 請求の範囲 無

進歩性(IS)

請求の範囲 2-7, 9 有  
 請求の範囲 無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲 1-7, 9 有  
 請求の範囲 無

## 2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: HINUMA et al, 'A prolactin-releasing peptide in the brain',  
 NATURE, 1998年5月21日, 第393巻, pp272-276、全文  
 文献2: BOERSMA et al, 'Immunocytochemical localization of neuropeptide FF(F  
 MRF amide-like peptide) in the hypothalamo-neurohypophyseal system of  
 wistar and brattleboro rats by light and electron microscopy',  
 THE JOURNAL OF COMPARATIVE NEUROLOGY, 1993年, 第336巻, pp555-570、全  
 文

## 説明

請求の範囲 2-7, 9

文献1には、PrRPが視床下部に局在しており、プロラクチンの分泌を促進していることが記載されているが、オキシトシンの分泌調節についての記載はなく、またプロラクチンの分泌促進とオキシトシンの分泌調節との関連については国際調査報告に引用されたいずれの文献にも記載されておらず、また当業者にとって自明なものでもない。

文献2には、PrRPと同じくFMRF Amide-like peptideの1つであるNeuropeptide FFが、視床下部の神経葉に局在しており、オキシトシンとバソプレッシンの分泌に関与している可能性があることが記載されているが、PrRPがオキシトシンの分泌を調節しているとの記載はなく、また全てのFMRF Amide-like peptideに属するペプチドがオキシトシンの分泌調節に関与していることは国際調査報告に引用されたいずれの文献にも記載されておらず、また当業者にとって自明なものでもない。



VI. ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

出願番号 特許番号	公知日 (日. 月. 年)	出願日 (日. 月. 年)	優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年)
WO 98/58962, A1 「EX」	30. 12. 98	22. 06. 98	23. 06. 97

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類	書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年)	書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年)
-----------------	------------------------------	--

127  
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 2584WO0P	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/07199	International filing date (day/month/year) 22 December 1999 (22.12.99)	Priority date (day/month/year) 25 December 1998 (25.12.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 38/17		
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☒ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 31 January 2000 (31.01.00)	Date of completion of this report 12 September 2000 (12.09.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

## I. Basis of the report

### 1. With regard to the elements of the international application:\*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.  
 These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claims Nos. 1,8,10

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 8,10 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

The subject matters of claims 8 and 10 relate to a method of treating the human body by therapy, which does not require an international preliminary examination by the International Preliminary Examining Authority in accordance with PCT Article 34(4)(a)(i) and Rule 67.1(iv).

☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 1 are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

No opinion can be given with respect to "a ligand peptide for a G protein-coupled receptor protein", since the specific identity of the peptide is not clear to a person skilled in the art.

☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

☒ no international search report has been established for said claims Nos. 1,8,10

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	2-7,9	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	2-7,9	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-7,9	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

Document 1: Hinuma et al., "A prolactin-releasing peptide in the brain", Nature, 21 May, 1998, Vol. 393, pages 272-276, full text

Document 2: Boersma et al., "Immunocytochemical localization of neuropeptide FF (FMRF amide-like peptide) in the hypothalamo-neurohypophyseal system of Wistar and Brattleboro rats by light and electron microscopy", Journal of Comparative Neurology, 1993, Vol. 336, pages 555-570, full text

#### Explanation

Claims 2-7 and 9

Document 1 states that PrRP is localized in the hypothalamus and promotes the secretion of prolactin, but it does not describe the secretory control of oxytocin. Furthermore, the relation between the secretory promotion of prolactin and the secretory control of oxytocin is neither described in any of the documents cited in the ISR nor obvious to a person skilled in the art.

Document 2 states that neuropeptide FF, an FMRF amide-like peptide such as PrRP, is localized in the nerve lobe of the hypothalamus and may participate in the secretion of oxytocin and vasopressin, but does not state that PrRP controls the secretion of oxytocin. Furthermore, it is neither described in any of the documents cited in the ISR nor obvious to a person skilled in the art that all FMRF amide-like peptides participate in the secretory control of oxytocin.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07199

## VI. Certain documents cited

### 1. Certain published documents (Rule 70.10)

Application No. Patent No.	Publication date (day/month/year)	Filing date (day/month/year)	Priority date (valid claim) (day/month/year)
WO98/58962,A1 [EX]	30 December 1998 (30.12.1998)	22 June 19098 (22.06.19098)	23 June 1997 (23.06.1997)

### 2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

Kind of non-written disclosure	Date of non-written disclosure (day/month/year)	Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year)